

UNIVERSITÉ CLAUDE-BERNARD (LYON I)
UNITÉ D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE
DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Année 1972 - N° 592

**DÉTERMINATION ET ÉTUDE DYNAMIQUE
DES CARBONATES OSSEUX
AU COURS DE LA VENTILATION ASSISTÉE**

THÈSE

pour le Doctorat de l'Université de Lyon
Section de PHARMACIE

présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Claude-Bernard - Lyon
Unité d'Enseignement et de Recherche
des Sciences Pharmaceutiques

le 23 Juin 1972

par

Sylvain BERSTEIN

né le 27 Août 1945

à ROANNE (Loire)

UNIVERSITÉ CLAUDE-BERNARD LYON I
FACULTÉ D'INGÉNIEURIE ET DE RECHERCHE
DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Année 2021 - 2022



DÉTERMINATION ET ÉTUDE DYNAMIQUE

DES CARBONATES INORGANIQUE
AU COURS DE LA VENTILATION ASSISTÉE

Digitized by the Internet Archive
in 2026

THÈSE

présentée à l'Université de Lyon

pour l'obtention du DIPLÔME DE DOCTORAT

en Chimie des Matériaux

par M. Sébastien CHAMPAGNE

Président du Jury : M. Jean-Louis LACROIX
Rapporteurs : M. Jean-Louis LACROIX, M. Jean-Louis LACROIX

Directeur de thèse : M. Jean-Louis LACROIX

199

Sylvain BÉGIN

https://archive.org/details/IA41552613_0035

© JOANNE (Lyon)

UNIVERSITÉ CLAUDE-BERNARD (LYON I)
UNITÉ D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE
DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Année 1972 - N°

**DÉTERMINATION ET ÉTUDE DYNAMIQUE
DES CARBONATES OSSEUX
AU COURS DE LA VENTILATION ASSISTÉE**

THÈSE

pour le Doctorat de l'Université de Lyon
Section de PHARMACIE

présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Claude-Bernard - Lyon
Unité d'Enseignement et de Recherche
des Sciences Pharmaceutiques

le 23 Juin 1972

par

Sylvain BERSTEIN

né le 27 Août 1945

à ROANNE (Loire)

UNIVERSITÉ CLAUDE-BERNARD (LYON II)
UNITÉ D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE
DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Année 1972 - 1973

AU COURS DE LA VENTILATION ASSISTÉE
DES CARBOHYDRATES OSEUX
DÉTERMINATION ET ÉTUDE DYNAMIQUE



THÈSE

pour le Doctorat de l'Université de Lyon
Section de PHARMACIE
présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Claude-Bernard - Lyon
Unité d'Enseignement et de Recherche
des Sciences Pharmaceutiques
le 22 Juin 1973

par

Sylvain BERTSTEIN
né le 27 Août 1945
à ROANNE (Loire)

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD

LYON

Président : Monsieur le Professeur J. BOIDIN
1er Vice-Président : M. R. TOURAINE, Maître de Conférences-Agrégé
2ème Vice-Président : M. P. PONCET, Maître Assistant
3ème Vice-Président : M. D. SETTELEN, Etudiant.

UNITES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE

Unités	Directeurs
U.E.R. Médicale Grange-Blanche	M. le Professeur D. GERMAIN
U.E.R. Médicale Alexis Carrel	M. le Professeur C. GIROD
U.E.R. Médicale Lyon-Nord	M. le Professeur A. BERTOYE
U.E.R. Médicale Lyon-Sud-Ouest	M. le Professeur L. TOLOT
U.E.R. des Sciences Pharmaceutiques	M. M. CARRAZ, Maître de Conférences-Agrégé
U.E.R. des Techniques de Réadaptation	M. le Professeur P. MOUNIER-KUHN
U.E.R. de Biologie Humaine	M. J. C. CZYBA, Maître de Conférences-Agrégé
Institut Régional d'Éducation Physique et Sportive	M. J. SAPIN, Professeur E.P.S.
U.E.R. de Mathématiques	M. le Doyen J. BRACONNIER
U.E.R. de Physique	M. le Professeur M. DUFAY
U.E.R. de Chimie et Biochimie.	Mlle le Professeur D. GAUTHERON
U.E.R. des Sciences de la Nature	M. le Professeur L. DAVID
U.E.R. de Biodynamique et Psychopédagogie	M. le Professeur J. CHANEL
U.E.R. de Physique Nucléaire	M. le Professeur A. SARAZIN
Institut Universitaire de Technologie I	M. le Professeur L. FEUVRAIS
Institut Universitaire de Technologie II	M. J. GALLET
Observatoire	M. le Professeur J. H. BIGAY

Secrétaire Général : M. P. IZAUTE

Examineurs de la Thèse :

Président : Monsieur le Professeur J. DORCHE

Assesseurs : Monsieur le Professeur A. BERTOYE

Monsieur le Professeur A. FREDERICH.

Monsieur le Professeur Y. MINAIRE.

A mes Parents,

*Nous leur dédions ce travail. Qu'il soit le témoignage de notre
profonde reconnaissance et de notre tendre affection.*

A toute ma famille,

A tous mes amis.

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DE THESE :

Monsieur le Professeur J. DORCHE,

Nous lui sommes reconnaissant d'avoir bien voulu s'intéresser à notre travail et apporter de précieux conseils tout au long de sa réalisation.

Au cours de notre Internat nous avons eu le privilège de passer dans son service un semestre comme interne suppléant puis quatre semestres comme interne titulaire. Nous nous souviendrons de ses expressions savoureuses et imagées qui dissimulent un esprit généreux et entretiennent une atmosphère bienveillante dans son laboratoire.

Nous sommes heureux de l'honneur qu'il nous fait en acceptant de présider cette thèse. Nous l'assurons de notre fidèle et respectueux dévouement.

A NOS MAITRES ET JUGES :

Monsieur le Professeur A. BERTOYE,

Il s'est toujours montré plein de sollicitude à notre égard pendant les trois semestres que nous avons effectués dans son service.

Qu'il trouve dans ce travail, réalisé au Centre des Insuffisants Respiratoires, un témoignage de notre respectueuse gratitude.

Monsieur le Professeur A. FREDERICH,

Nous avons pu apprécier son abord aimable et sa grande compétence chaque fois que nous lui avons demandé conseil. Nous sommes heureux de le compter parmi nos juges.

Qu'il veuille trouver ici l'expression de notre dévouée et respectueuse reconnaissance.

Monsieur le Professeur Y. MINAIRE,

Il a très aimablement accepté de juger notre travail. Nous sommes très sensible à l'honneur qu'il nous fait.

Qu'il veuille bien trouver ici nos remerciements.

A Madame S. GUIBAUD et au Docteur J.F. BOLOT,

*Nous avons entrepris ce travail qui leur tenait à coeur avec leur aide
et leurs conseils.*

Qu'ils trouvent ici l'expression de notre gratitude.

A tous ceux qui ont collaboré à ce travail,

Docteur Ch. BERNARD

Docteur J.P. BERNARD

Monsieur BIRON

Les internes de l'Hôpital de la Croix Rousse :

Monsieur J. BIENVENU

Mademoiselle A. PLUMET

Monsieur P. RICHARD

Les laborantines de l'Hôpital de la Croix Rousse :

Madame M.P. BONNARD

Mademoiselle M. CEVOZ

Madame M. MARTEL

Mademoiselle M. POLLET

Nous leur exprimons notre amicale reconnaissance.

INTRODUCTION

Le système osseux, en tant que réserve d'éléments minéraux, préoccupe les physiologistes depuis de nombreuses années, les premières études remontent aux travaux de GABRIEL (51) en 1894.

Le calcium, le phosphore, et plus récemment le sodium et le potassium, ont retenu l'attention des auteurs ; parmi les anions étudiés, le rôle des carbonates osseux a été inventorié au cours des acidoses et alcaloses respiratoires et surtout métaboliques. En effet, les réserves de carbonates osseux atteignent 120 l soit 90 % des carbonates présents chez un homme de 70 kg environ.

En raison des difficultés de prélèvement d'échantillons osseux, seule l'étude statique de ces réserves a pu être réalisée chez l'homme, et seulement post mortem : de 2 à 48 heures après le décès, avec toutes les modifications que ce matériel biologique peut subir pendant le laps de temps. La cinétique d'éventuelles variations des éléments minéraux a été étudiée de façon expérimentale chez l'animal au cours d'épreuves d'acidose ou d'alcalose correspondant généralement à une acutisation d'états stationnaires chroniques expérimentaux souvent de courte durée : (steady state pour les Anglo-saxons).

Le dosage des carbonates dans les échantillons osseux présente des difficultés techniques importantes : nécessité d'opérer sur des échantillons fraîchement prélevés, et d'éviter la perte d'une fraction non négligeable de cet anion au cours des manipulations qui suivent le prélèvement.

Les techniques habituelles de dosage du calcium et du phosphore dans les milieux biologiques sont adaptables sans problèmes majeurs au matériel osseux.

Le but de notre travail a été d'une part de mettre au point un protocole permettant la détermination des carbonates : du calcium et du phosphore contenus dans les prélèvements osseux, d'autre part d'explorer le tissu osseux des insuffisants respiratoires en ventilation assistée pour l'étude des variations de ces différents paramètres. Ce tissu est en effet considéré par certains auteurs comme échangeur lent, et par d'autres comme possédant une fraction labile immédiatement mobilisable au cours d'une agression.

Dans la première hypothèse l'intérêt thérapeutique apparaît de façon évidente : quelques déterminations de carbonates osseux, de calcium et de phosphore successifs permettant alors de suivre l'épuration du CO_2 et l'amélioration de l'état acidotique au cours d'une intubation nasotrachéale ou d'une trachéotomie. Si la deuxième possibilité se confirme, il sera très difficile, en pratique courante, de considérer ces déterminations comme tests d'évolution.

Dans une première partie nous ferons un rappel des principales techniques de dosage des carbonates tissulaires. Nos travaux personnels à propos de 70 prélèvements osseux itératifs cons-

titueront le deuxième volet de cette étude. Enfin, nous discuterons des résultats en fonction des données établies dans un travail précédent (67).

* * *

PLAN DE NOTRE ETUDE

I - ETUDE ANALYTIQUE :

- Méthodes de dosage des carbonates tissulaires.
- Nos travaux personnels.

* * *

II - ETUDE DYNAMIQUE :

- Rappel des différentes expérimentations publiées antérieurement.
- Etude dynamique des carbonates osseux chez 13 malades insuffisants respiratoires chroniques.

* * *

III - DISCUSSION.

* * *

I - PARTIE ETUDE ANALYTIQUE

1 - 1 - Méthodes de dosage des carbonates tissulaires :

Il était relativement aisé d'évaluer la "fixation" du CO_2 au niveau tissulaire par spirométrie ; cependant certains auteurs se sont attachés à étudier les carbonates de l'organisme secteur par secteur. Les premières mesures manométriques de VAN SLYKE (110) ont dès 1917 facilité cette exploration.

Jusqu'à présent quatre groupes de méthodes ont été préconisés pour le dosage des carbonates :

- les méthodes manométriques,
- les méthodes gravimétriques,
- les méthodes conductimétriques,
- les méthodes titrimétriques.

Elles ont toutes été utilisées avec des fortunes diverses. Nous les rappellerons donc en essayant de discuter leurs avantages et leurs inconvénients.

1 - 1 - 1 - LES METHODES MANOMETRIQUES :

Après les travaux sur le pouvoir tampon du sang de VAN SLYKE et CULLEN, et l'introduction en pratique courante de leur appareil, il était tout naturel de rechercher une méthode simple applicable aux tissus et à l'os.

1 - 1 - 1 - 1 - *HYDROLYSE ALCALINE :*

En 1936, ANREP, AYADI, et TALAAT décrivent une technique (5) permettant l'utilisation de l'appareil manométrique de VAN SLYKE.

- *Principe de la technique :*

Leur méthode consiste en une détermination des carbonates tissulaires sur une partie aliquote de tissus liquéfiés par hydrolyse alcaline sous huile.

- *Technique d'hydrolyse alcaline :*

Ces auteurs préconisent l'utilisation d'une solution alcaline de soude caustique à 5 % ; 4 ml sont nécessaires pour liquéfier 1 g à 1,50 g de tissu mou, à 60 - 65° C pendant 30 minutes.

Ils constatent déjà qu'une élévation de la température supérieure à 70° C provoque une augmentation considérable des carbonates provenant de la décomposition de la créatine musculaire et de l'acide urique ; les protéines et les acides aminés n'intervenant que faiblement dans le taux de carbonates. L'hydrolyse est complète en 30 minutes.

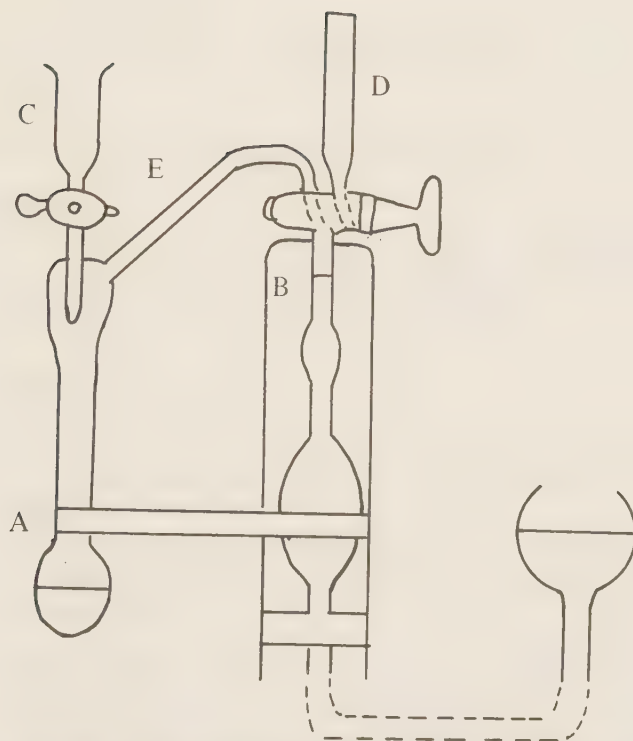


Schéma 1 : Montage utilisé pour l'extraction et le dosage manométrique des carbonates tissulaires.

Une fois l'hydrolyse terminée, on complète à 7 ml avec de l'eau décarbonatée, cette dilution étant destinée à éviter l'utilisation d'un acide trop concentré pour le dosage.

- *Technique de dosage des carbonates :*

Le dosage est effectué sur 1 ml de prise d'essai. L'acide employé est l'acide sulfurique H_2SO_4 0,4 N avec 1 % de sulfate de cuivre pour éliminer H_2S qui apparaît au moment de l'acidification.

Cette technique est applicable au sang et aux tissu mous, mais non à l'os. Ces auteurs notent déjà une perte en carbonates tissulaires lorsque l'hydrolyse ne débute pas immédiatement après le prélèvement tissulaire. Pour eux le temps de latence ne doit pas excéder 20 secondes.

1 - 1 - 1 - 2 - HYDROLYSE ACIDE :

DANIELSON et HASTING proposent une méthode directe utilisant un appareil de VAN SLYKE (33). Cette technique a l'avantage par rapport à celle décrite ci-dessus de faire l'extraction et le dosage des carbonates en une même manipulation. De plus une autre originalité de ce dosage est l'histolyse acide qui sera retenue par tous les auteurs fidèles à cette méthode (13, 50, 52, 53, 101).

◆ *Principe :*

Le tissu musculaire ou osseux est placé dans le tube A (figure N° 1) connecté à l'appareil de VAN SLYKE. Une solution alcaline contenue dans la partie B de l'appareil capte le CO_2 libéré par l'action conjuguée d'un acide du chauffage et du vide.

Une fois l'histolyse terminée, le CO_2 fixé par la soude est libéré par un acide. Le taux de CO_2 est calculé de la manière habituelle suivant les tables de VAN SLYKE.

◆ *Etude comparative des différentes méthodes :*

◇ Matériel:

Le matériel utilisé est en pyrex. SOBEL rajoute un E réfrigérant à reflux pour éliminer la vapeur d'eau qui risque de contaminer la solution alcaline présente dans l'appareil de VAN SLYKE.

◇ Réactifs .

Pour l'extraction :

— L'acide préconisé par les différents auteurs est variable s'il s'agit d'un tissu mou ou de l'os.

Pour les tissus mous, DANIELSON et FENN (33) utilisent l'acide sulfurique H_2SO_4 N additionné de fluorure de fer FeF_3 afin d'inhiber les réactions enzymatiques.

Pour le tissu osseux il était nécessaire de trouver un acide suffisamment fort pour provoquer une histolyse complète en évitant une combustion avec libération de CO_2 organique comme il se produit avec la solution oxydante de VAN SLYKE et FOLCH (111) : acide chromique additionné d'acide sulfurique et d'acide phosphorique.

— SOBEL, FREEMAN, PELLEGRINO (101 - 50 - 82) emploient l'acide chlorhydrique HCL 3 N.

BOWES et MURRAY (13) utilisent l'acide chlorhydrique HCL 2 N.

— Cinq gouttes d'alcool octylique sont ajoutées dans la chambre d'histolyse pour éviter l'apparition de mousse.

— Le fixateur de CO_2 est constitué par de la soude :

NaOH 0,1 N pour DANIELSON

NaOH 0,5 N pour SOBEL et FREEMAN.

(La durée du chauffage est comprise entre 10 et 15 minutes à l'ébullition).

Pour le dosage :

— La libération du CO_2 est provoquée par addition d'acide lactique :
acide lactique N pour DANIELSON
acide lactique 2 N pour SOBEL et FREEMAN.

Pour ces auteurs la précision du dosage est de 1 à 3 %.

1 - 1 - 2 - LES METHODES GRAVIMETRIQUES

La technique gravimétrique a été probablement la moins utilisée, car si son principe est simple, son application est très délicate, elle doit être notée pour mémoire.

◆ *Principe :*

L'addition d'acide au tissu osseux provoque un dégagement de CO_2 qui circule le long d'un tube contenant un solide absorbant de grande surface : soude sur amiante : "ascarite", chaux sodée en grains. On détermine l'augmentation de poids du tube absorbeur de CO_2 . Il est nécessaire d'éliminer l'eau par des produits desséchants comme le chlorure de calcium CaCl_2 ou l'anhydride phosphorique P_2O_5 .

◆ *Application :*

Cette technique a été mise en oeuvre par IRVING et CHUTE (61). Le CO_2 dégagé par 10 ml d'acide chlorhydrique, HCL à 4 %, à ébullition est entraîné par un courant d'air privé de CO_2 , et d'humidité grâce à P_2O_5 comme substance desséchante, dans un barboteur contenant de l'ascarite (87) l'histolyse, selon ces auteurs est complète au bout d'une heure.

1 - 1 - 3 - LES METHODES CONDUCTIMETRIQUES

Déjà utilisée par FENN (41) en 1928 et reprise par DALLEMAGNE en 1941 (30) la conductimétrie est une technique sensible.

Elle consiste à faire barboter les gaz dans une solution de baryte dont on détermine les variations de conductivité.

L'acide employé est l'acide chlorhydrique, HCL au 1/4, les gaz dégagés sont entraînés par un courant d'air dans un barboteur qui renferme une solution de baryte.

Un des écueils de cette technique est représenté par les variations de conductivité en fonction de la température (de l'ordre de 2 à 2,5 %).

Cette méthode nécessite un étalonnage très précis et très long.

1 - 1 - 4 - LES METHODES TITRIMETRIQUES

Ces méthodes paraissent être plus spécialement adaptées au dosage des carbonates dans les tissus. En effet, l'acide carbonique est un polyacide ; il peut donc donner lieu à des réactions d'échange de protons. On décèlera la fin des réactions soit au moyen d'indicateurs de pH, soit en utilisant un couple électrode au calomel - électrode de verre.

Si le CO_2 est absorbé dans une solution alcaline il est alors possible de déterminer :

- l'excès de cette solution par dosage en retour (Méthode de CONWAY et DALLEMAGNE).
- le carbonate formé en le dissolvant dans un excès d'acide titré ; on dose alors en

en retour l'excès d'acide (Méthode de KUYPER).

— Le carbonate formé dans un mélange soude-carbonate par titration directe.

1 - 1 - 4 - 1 - METHODE DE CONWAY :

1 - 1 - 4 - 1 - 1 - Technique initiale de CONWAY (28 - 29).

CONWAY et FEARON ont mis au point une technique applicable à la détermination du CO_2 musculaire.

Le poids de l'échantillon est voisin de 2 g, il est introduit immédiatement après le prélèvement dans un tube contenant de la potasse KOH 0,5 N.

L'histolyse dure 1 heure à froid. Une fraction aliquote (0,5 ml) est ensuite placée dans la partie extérieure d'une chambre de CONWAY N° 2 qui contient déjà au centre 0,2 ml de baryte $\text{Ba}(\text{OH})_2$.

Le dégagement de CO_2 de l'hydrolysate est assuré par 0,5 ml d'acide sulfurique H_2SO_4 2 N.

Au bout d'une heure les titrations sont effectuées par de l'acide chlorhydrique HCL 0,025 N contenu dans une microburette.

1 - 1 - 4 - 1 - 2 - Technique de CONWAY modifiée par DALLEMAGNE (31).

DALLEMAGNE a mis au point un procédé inspiré de la méthode précédente permettant de doser les carbonates osseux.

L'os est soumis à un broyage dans un mortier d'Abich suivi d'un tamisage, les grains ont une dimension inférieure à 420 μg ; un autre procédé utilisé est le fractionnement du tissu osseux par flottation (38).

L'appareil est un récipient cône dont la partie centrale est destinée à recevoir la poudre à examiner 25 à 50 mg. La zone périphérique renferme 5 ml de baryte 0,04 N. Deux orifices surmontent l'appareil, l'un permettant l'introduction d'acide chlorhydrique HCL 2,5 N, pour libérer le CO_2 dans la partie centrale, l'autre est ajusté à une burette qui contient l'acide chlorhydrique 0,05 N utilisé pour la titration en retour de l'excès de baryte. l'indicateur est le bleu de thymol.

L'extraction et le dosage se font sous un vide partiel de 60 à 65 cm de mercure afin d'éviter l'introduction de CO_2 atmosphérique au cours de la manipulation.

1 - 1 - 4 - 2 - METHODE DE KUYPER (65).

Il existe un procédé simple pour déterminer le taux de carbonate d'un échantillon : il suffit de dissoudre ces carbonates dans un excès d'acide titré et de doser en retour la quantité d'acide non utilisée.

Pour ce faire KUYPER préconise une solution alcaline de chlorure de strontium. Les carbonates sont précipités sous forme de carbonate de strontium, la suspension est ajustée à pH neutre en présence de phénolphthaleïne. KUYPER ajoute alors un excès d'acide chlorhydrique (HCL 0,1 N) ce qui permet la dissolution

du précipité avec libération de CO_2 . L'excès d'acide est dosé en retour avec de la soude NaOH 0,03 N.

1 - 1 - 4 - 3 - *METHODE DE DOSAGE DES CARBONATES PAR TITRATION D'UNE SOLUTION DE SOUDE CARBONATEE.*

1 - 1 - 4 - 3 - 1 - *Technique de REICHART (90).*

Nous rappellerons simplement ici le principe du dosage puisque c'est celui que nous avons adopté pour nos travaux personnels ; cette méthode sera décrite dans la partie expérimentale de notre travail.

Après histolyse acide à chaud par l'acide sulfurique des tissus frais, le CO_2 libéré est fixé par une solution de soude normale.

La carbonatation de la soude est mesurée par acidimétrie avec l'acide chlorhydrique HCL N successivement à pH 3,5 et à pH 8,6. La différence entre les 2 chiffres est proportionnelle à la quantité de CO_2 dégagé à partir du fragment tissulaire.

1 - 1 - 4 - 3 - 2 - *Technique de BURSAUX (21).*

Cet auteur préfère une minéralisation à froid par 20 ml d'acide chlorhydrique HCL 5 N. Le CO_2 dégagé au cours de l'histolyse, qui dure 18 h., est capté par 5 ml de soude NaOH 5 N. La circulation des gaz s'effectue grâce à une pompe à membrane.

BURSAUX utilise une seconde fiole à vide comme régulateur de pression. Le dosage s'effectue sur une partie aliquote de soude NaOH 5 N à l'aide d'acide chlorhydrique HCL 0,1 N en présence de phénophtaleine comme indicateur de virage. Dans ces conditions opératoires au pH de virage la quantité de CO_2 présente sous une forme autre que les bicarbonates est négligeable (0,003 % pour l'acide carbonique) ; la différence entre la quantité de HCL nécessaire pour titrer le blanc et celle nécessaire pour titrer l'échantillon est égale au contenu en CO_2 de la substance à analyser.

1 - 1 - 5 - *COMMENTAIRES SUR LES PROTOCOLES EXPERIMENTAUX DECRITS DANS LA LITTERATURE.*

Nous venons d'envisager les différentes méthodologies les plus couramment utilisées pour le dosage des carbonates tissulaires. Il convient de discuter quelques points essentiels qui ont été le fil directeur de nos travaux personnels.

1 - 1 - 5 - 1 - *A PROPOS DE LA PREPARATION DE L'ECHANTILLON A ANALYSER :*

— Si le dosage des carbonates des tissus mous est relativement aisé en raison de la facilité de l'histolyse, tous les auteurs se sont heurtés au problème du tissu osseux difficilement détruit à l'état frais dans les conditions opératoires habituelles.

De ce fait le matériel osseux a été traité par chauffage à 110°C , puis quelque fois réduit en poudre très fine. Cette étape préliminaire semble critiquable car le chauffage provoque une perte importante et obligatoire de carbonate osseux. (21 - 79).

— De plus les auteurs insistent sur le temps de latence entre le prélèvement et début d'histolyse qui doit être réduit au minimum pour éviter la perte de carbonates. En fait certains auteurs (21 - 50) démontrent qu'il n'y a pas modification du contenu en CO_2 mais perte de poids évalué à 1 % en 10 minutes : perte due à la dessiccation dans l'air ambiant.

1 - 1 - 5 - 2 - *A PROPOS DES METHODES D'EXTRACTION.*

Nous pouvons distinguer 2 types de méthodes :

— *les méthodes d'histolyse à froid.*

Il est essentiel de savoir si cette histolyse à froid libère la totalité des carbonates. La durée de l'extraction est relativement courte dans le cas d'un micro-broyage osseux, ou pour un tissu mou, mais dans le premier cas la prise d'essai est très faible 25 à 50 mg, ce qui accroît encore les causes d'erreurs.

Si l'on s'adresse à un tissu osseux frais la durée de l'extraction est longue, 18 heures, cette technique est donc peu applicable en pratique journalière (21).

— *les méthodes d'histolyse à chaud.*

Ces techniques rapides ont cependant un risque majeur : provoquer la combustion de l'échantillon avec libération de CO_2 organique (21). Il est donc nécessaire de chauffer progressivement le bain d'histolyse, comme le fait REICHART.

1 - 1 - 5 - 3 - *A PROPOS DES METHODES DE DOSAGE.*

Nous avons noté dans notre rappel bibliographique la prédominance de deux groupes de techniques :

— *les techniques manométriques,*
— *les techniques titrimétriques.*

Il est difficile de déterminer celle qui est la plus fidèle, mais nous pouvons préciser certaines données.

1 - 1 - 5 - 3 - 1 - *Pour les techniques manométriques :*

Elles ont l'avantage d'être rapides et de permettre une lecture directe du volume de CO_2 dégagé, de plus elles reposent toutes sur la technique manométrique

de VAN SLYKE, méthode de référence pour le CO_2 plasmatique.

Il faut cependant souligner quelques inconvénients, la possibilité de contamination par d'autres gaz (101), et les importantes précautions qui doivent être prises au cours des manipulations (111). De plus dans le cas d'un échantillon osseux, il est très difficile de l'appliquer sur un fragment entier : ce dernier doit subir au préalable un traitement, en raison de la courte durée du temps de minéralisation.

1 - 1 - 5 - 3 - 2 - Pour les techniques titrimétriques :

Ces techniques paraissent être plus facilement utilisables pour des dosages en série avec un matériel de laboratoire courant, en tenant compte du problème exposé au paragraphe précédent.

Nous devons reconnaître qu'il est facile d'adapter toutes les méthodes d'extraction :

- à froid
- à chaud
- sous vide
- avec un courant d'air privé de CO_2 .

Nous avons retenu la technique de REICHART pour réaliser l'étude dynamique des carbonates osseux chez l'insuffisant respiratoire. Cette technique directement applicable à des échantillons frais permet en effet la détermination des carbonates à l'état de bicarbonates, de carbonates neutres, et la mesure du CO_2 éventuellement à l'état dissous. De plus la durée d'histolyse à chaud, qui s'élève à 6 heures, autorise des mesures répétées chez le même malade.

* * *

1 - 2 - Travaux personnels.

1 - 2 - 1 - DOSAGE DES CARBONATES OSSEUX :

1 - 2 - 1 - 1 - *PRINCIPE DU DOSAGE*

La détermination des carbonates du tissu osseux nécessite tout d'abord l'histolyse du fragment osseux par l'acide sulfurique H_2SO_4 R.P. à 96 %. Le CO_2 libéré est fixé par la soude normale et le dosage s'effectue par titrage de la soude carbonatée en présence d'acide chlorhydrique HCL normal à pH 3,5 et 8,6. On apprécie de la même façon l'état de carbonatation de la solution de soude avant l'essai.

1 - 2 - 1 - 2 - *MATERIEL ET REACTIFS.*

♦ *Dispositif de collection du CO_2 (schéma 2).*

Le matériel est en verre pyrex, muni de rodages pour assurer une parfaite étanchéité. Les connections du circuit sont constituées par des tuyaux en polyéthylène. La chambre de minéralisation piriforme comporte une triple ouverture reliée :

- à un réservoir de réactif contenant l'acide sulfurique,
- à une arrivée d'air privé de CO_2 par barbotage dans une solution de lessive de potasse,
- à un réfrigérant à reflux.

Une trompe à vide assure la circulation des gaz depuis le réfrigérant jusqu'au flacon laveur à élément fritté contenant la soude Normale.

♦ *Source de chauffage.*

De la série n° 1 à la série n° 8 nous avons utilisé une rampe de chauffage pour 3 postes labotherme ref. RC/100. (*).

A partir de la série n° 9 la source de chauffage a été remplacée par un dispositif (schéma n° 3) qui assure une montée très progressive de la température (2)**.

♦ *Le matériel de dosage.*

Les déterminations titrimétriques ont été réalisées au moyen de l'appareillage

* VERRE et TECHNIQUE - 90, avenue de la Convention 94 - ARCUEIL.

** Maison GIRERD G. - 57, Cours Eugénie 69 - LYON 3ème.

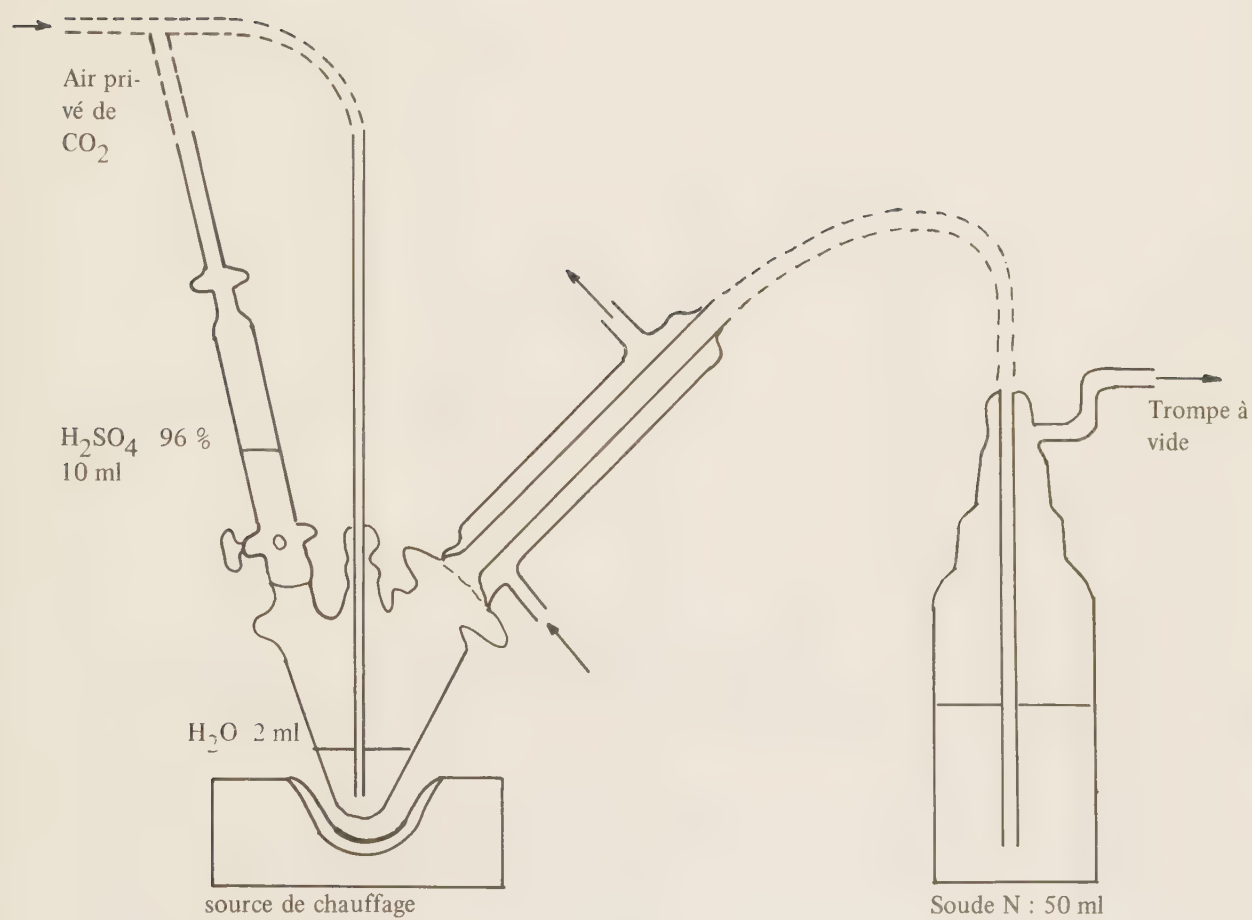
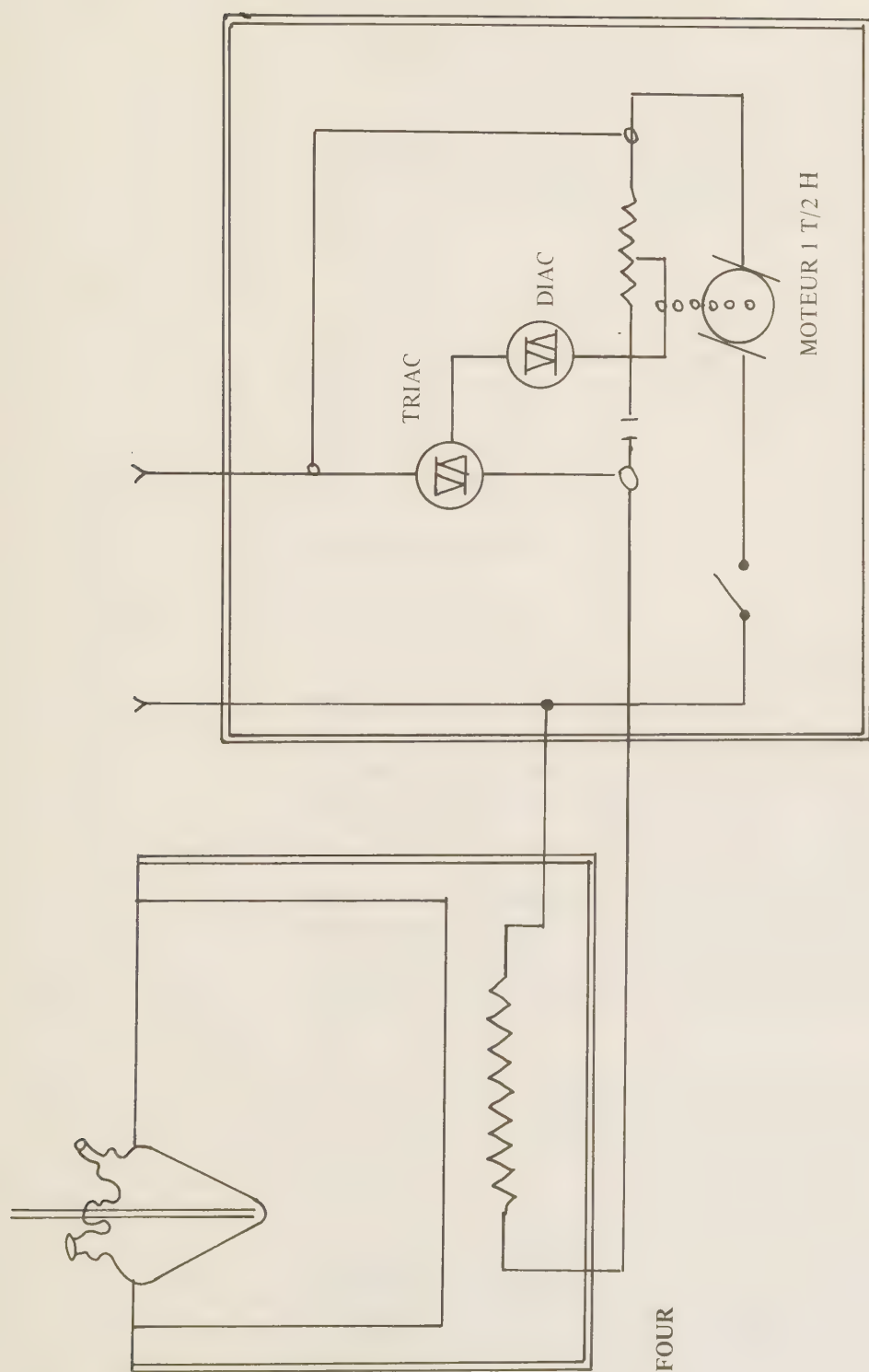


Schéma 2 : Appareillage d'histolyse à chaud en milieu acide.



CIRCUIT ELECTRIQUE

Schéma 3 : Appareil utilisé pour le chauffage régulier et progressif du bain d'histolyse.

Radiometer (3)* constitué par :

- un dispositif de titration TTA 31 :
 - avec électrode de verre et électrode au calomel,
 - cuve de titration, et agitateur magnétique.
- un titrateur automatique avec régulateur de débit et lecture digitale au 1/100 de millilitre ; UNITTS ABBU 12,
- un pH mètre permettant une titration à point final prédéterminé : TITRATOR TT2.

♦ *Réactifs.*

- Eau décarbonatée (eau distillée portée à ébullition pendant 1/2 heure, conservée en flacon bouché émeri. Elle est préparée chaque semaine).
- H_2SO_4 à 96 % R.P.
- NaOH Normale Merck.
- HCL Normal Merck.

1 - 2 - 1 - 3 - *PROTOCOLE OPERATOIRE :*

1 - 2 - 1 - 3 - 1 - *Libération du CO_2 .*

Dès son arrivée au laboratoire l'échantillon osseux est pesé dans le tube, hermétique, stérile, qui le contient. Soit P_1 .

Le prélèvement est immédiatement introduit dans la chambre de minéralisation qui contient 2 ml d'eau décarbonatée. Nous effectuons alors une nouvelle pesée du tube vide : soit P_2 .

La différence $P_1 - P_2$ correspond au poids de l'échantillon.

Nous évitons en opérant ainsi toute exposition à l'air ambiant qui provoque très rapidement une perte de poids non négligeable estimée selon BURSAUX à 1 % en 10 minutes et à 4 % en 1 heure. Ce point nous paraît devoir être souligné dans la mesure où nous voulons exprimer le contenu en CO_2 par unité de poids d'os frais.

Nous pourrions formuler des réserves pour cette technique, car la contamination de l'échantillon par du sang de ponction d'importance variable d'un prélèvement à l'autre constitue une difficulté sur laquelle nous reviendrons ultérieurement.

L'étanchéité du circuit étant vérifiée, l'acide sulfurique H_2SO_4 à 96 % est ajouté par petites fractions de façon à ce que la totalité (10 ml) soit versée en 1 heure environ. Dès l'addition de quelques millilitres d'acide il se produit un dégagement de chaleur qui a pour l'intérêt de bloquer toutes les réactions enzymatiques et d'éviter ainsi un apport de CO_2 d'origine organique. Notre choix a

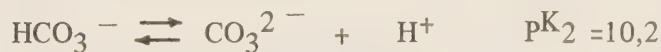
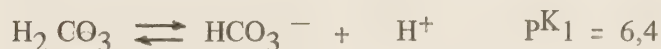
* Appareillage RADIOMETER PIERRE JACQUIN - 18, rue Pierre Curie 75 - PARIS 5ème.

porté préférentiellement sur l'acide sulfurique qui à la température des opérations ne distille pas comme le ferait l'acide nitrique par exemple.

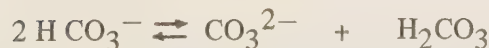
Une fois l'acide sulfurique entièrement introduit dans le réacteur, le chauffage est mis en route de telle sorte que la température maximum de 128 - 130°C soit atteinte en 1 h. 30. Cette précaution est indispensable car une élévation de température trop rapide produirait un dégagement supplémentaire de CO₂ par oxydation des molécules organiques de l'échantillon. Dans ce cas le résidu d'histolyse prend un aspect grumeleux, alors que dans de bonnes conditions son aspect est laqué et homogène signe d'une complète décomposition. Le CO₂ lentement dégagé, entraîné par un courant d'air est piégé dans 50 ml de soude décarbonatée. L'histolyse est totale en 6 heures.

1 - 2 - 1 - 3 - 2 - Dosage des carbonates par méthode titrimétrique.

L'anhydride carbonique CO₂ est gazeux et soluble dans l'eau. L'acide H₂CO₃ formé est un acide très faible : c'est un polyacide qui peut céder successivement plusieurs protons. Nous avons ainsi :



H₂CO₃ est un acide plus fort que HCO₃⁻. Lorsque le milieu devient acide, les équilibres se déplacent vers la gauche. Nous avons donc successivement en partant des milieux alcalins et en allant vers les milieux acides CO₃²⁻, HCO₃⁻, H₂CO₃. Le composé HCO₃⁻ est un ampholyte tel que :



Le pH de la solution de HCO₃⁻ est :



$$\text{pH} = \frac{1}{2} (\text{pK}_1 + \text{pK}_2) = 8,3$$

Ce pH est indépendant de la concentration.

Lorsque tout le CO₂ est sous forme de H₂CO₃ nous pouvons écrire :

$$\text{pH} = \frac{1}{2} \text{pK}_A - \frac{1}{2} \log C = 4$$

La titration de la soude carbonatée à ces deux pH permet de connaître la quantité de CO_2 dissoute.

Si on utilise pour la titration de la soude carbonatée, l'acide chlorhydrique normal, au point de neutralisation un excès d'acide de 0,2 % détermine un pH de 2,7 et 0,2 % par défaut détermine un pH de 4. REICHART a donc choisi un pH intermédiaire situé à 3,5 comme point final de dosage.

En fait comme REICHART nous avons effectué le titrage à pH 8,6 afin de tenir compte d'une éventuelle carbonatation non négligeable de la soude.

Les carbonates contenus dans la soude avant l'expérience sont dosés de la même façon. Par différence nous avons le CO_2 libéré par histolyse. Si nous opérons pour le dosage sur une prise d'essai de soude de 10 ml, le calcul se fait suivant l'équation :

$$\text{CO}_2 \text{ en mg/g d'os} = \frac{x \text{ ml HCL N} - y \text{ ml HCL N} \times 50 \times 44}{10}$$

x = nombre de millilitres d'HCL versés jusqu'à pH 8,6

y = nombre de millilitres d'HCL versés jusqu'à pH 3,5

44 = Poids moléculaire du CO_2 .

Les résultats sont ainsi rapportés par gramme d'os frais. Toutes les titrations sont réalisées en double exemplaires et le résultat final est la moyenne des deux valeurs obtenues.

Si nous considérons que le dosage est réalisé à l'aide d'une burette au 1/100 sur une prise d'essai de 10 ml, la précision du titrage a été pour notre étude de l'ordre de 5 mg de carbonates exprimés en CO_2 par g d'os frais.

1 - 2 - 2 - DOSAGE DU CALCIUM ET DU PHOSPHORE OSSEUX.

Ces dosages s'effectuent sur 1 ml de résidu d'histolyse soigneusement homogénéisé et dilué au 1/50 dans l'eau distillée. Nous rapportons très brièvement les techniques de dosage utilisées, classiquement appliquées à des milieux tels que sang et urine.

1 - 2 - 2 - 1 - DOSAGE DU CALCIUM.

Nous avons adopté la technique de TRONCHET (108). Le calcium est dosé par le complexon III en présence du réactif de PATTON et REEDER.

1 ml de solution complexon III M/400 correspond à 0,100 mg de calcium pour une prise d'essai de 1 ml soit 100 mg/l.

Le calcul se fait suivant l'équation :

$$\text{mg de calcium par g d'os frais} = \frac{X \times Y \times Z}{\text{Pds d'os frais}}$$

- x = nombre de millilitres de complexon III versés.
- y = dilution opérée après histolyse soit 1/50
- z = quantité d'acide sulfurique et d'eau ajoutée pour l'histolyse soit 1/12.

1 - 2 - 2 - 2 - *DOSAGE DU PHOSPHORE.*

Nous avons utilisé la technique de GOLDENBERG et FERNANDEZ (54).

Après traitement par l'acide trichloracétique, le phosphore minéral est dosé colorimétriquement avec le réactif sulfomolybdique.

Le taux de phosphore exprimé en milligrammes par gramme d'os est obtenu par la même formule que celle décrite ci-dessus pour le dosage du calcium.

1 - 2 - 3 - ESSAIS D'APPRECIATION DE LA VALIDITE DE LA METHODE :

Ces essais concernent exclusivement la détermination des carbonates car ces derniers posent des problèmes techniques beaucoup plus importants que ceux du calcium et du phosphore. Nous nous sommes proposés de pratiquer des vérifications de plusieurs ordres.

- Tester la fidélité de la méthode par une étude statistique sur une solution étalon de bicarbonate de potassium.
- Contrôler la reproductibilité des résultats lorsqu'il était possible d'avoir deux ponctions biopsies osseuses, prélevées sensiblement au même moment et au même endroit, grâce à deux appareils montés en série.
- Envisager les facteurs susceptibles de perturber les résultats :
 - contamination par du sang de ponction,
 - contamination par les tissus adipeux,
 - perte de poids à la dessiccation.

1 - 2 - 3 - 1 - *ESSAI DE PRECISION DE LA METHODE.*

Pour cet essai nous avons utilisé 21 ampoules d'un même lot de bicarbonate de potassium (KH CO_3 Prolabo R P) titrées à 0,5 équivalent par litre : valeur vérifiée par la méthode manométrique de VAN SLYKE.

La méthodologie a été identique à celle utilisée pour nos dosages de carbonates tissulaires, ce qui correspond donc à 1 milliequivalent, pour une prise de 2 ml de solution étalon.

Nous indiquons dans le tableau I les résultats trouvés sachant que :

- $\bar{x}$ est la moyenne de nos résultats
- S D est l'écart type par rapport à la moyenne
- t est le facteur STUDENT.

Nous devons tenir compte dans cet essai d'un coefficient de variabilité individuelle, car les dosages ont été réalisés par trois personnes différentes.

Tableau I
Contrôle d'exactitude.

Numéro du dosage	Valeur trouvée en milliequivalent	
1	1,125	
2	1,125	
3	1,035	
4	0,825	
5	1,050	
6	1,010	
7	0,995	
8	0,975	
9	1,100	
10	1,010	
11	1,050	
12	1,000	
13	1,050	
14	1,010	
15	0,950	
16	0,960	
17	1,195	
18	1,035	
19	0,995	
20	1,035	
21	1,010	

Test à la moyenne théorique

—
 $\bar{x} = 1,025$ milliequivalent
 $1 \text{ SD} = 0,015$
 $t = 1,64$

1 - 2 - 3 - 2 - CONTROLE DE LA REPRODUCTIBILITE DES DOSAGES SUR DEUX ECHANTILLONS OSSEUX PRELEVES AU MEME MOMENT.

Une telle étude a nécessité des conditions particulières. Il était en effet impossible de posséder un lot homogène d'échantillons osseux même en recourant à des prélèvements post mortem en raison du problème de la conservation. Il était cependant utile d'évaluer la qualité de l'histolyse sur un matériel tissulaire identique à celui exploré dans notre étude cinétique. Nous avons réalisé 5 tests : Tableau II.

Le rapport Ca/P permet de contrôler la qualité de la minéralisation. Le rapport CO_2/Ca apprécie le taux réel des carbonates car il tient compte des variations éventuelles de la densité des échantillons. Celui-ci peut en effet être contaminé par une quantité de sang de ponction différente d'un échantillon à l'autre, et par quelques fragments de tissu adipeux ; (Nous avons considéré le taux de calcium osseux comme notre étalon interne).

1 - 2 - 3 - 4 - FACTEURS POUVANT PERTURBER LES RESULTATS :

♦ *Présence de tissu adipeux :*

Nous venons d'indiquer dans le paragraphe précédent que ce tissu abaissait la densité de l'échantillon et de ce fait le taux de calcium par g d'os frais. Les tis-

Tableau n° II

Etude de la reproductibilité

	Carbonates exprimés en CO ₂ mg/g d'os frais.	Calcium exprimé en mg/g d'os frais.	Phosphore exprimé en mg/g d'os frais.	CO ₂ /Ca	Ca/P
1e test	65 51	122 95	72 54	0,53 0,53	1,69 1,75
2e test	98 110	90 97	43 41	1,08 1,13	2,09 2,37
3e test	150 158	82 86	37 33	1,82 1,83	2,21 2,61
4e test	194 154	96 80	65 53,5	2,02 1,92	1,48 1,50
5e test	257 2,58	72 76	30 30	3,56 3,39	2,40 2,53

t = 0,08
n = 9

sus mous sont en effet très riches en phosphore mais relativement pauvres en calcium.

♦ *Contamination par le sang :*

Il était intéressant de déterminer si le sang de ponction souillant un prélèvement peut perturber de façon importante le dosage du CO_2 en élevant le taux de carbonates. Nous avons effectué 3 extractions en utilisant comme prélèvement 2 ml de sang total. La contamination apparaît négligeable puisqu'elle correspondrait pour la prise d'essai considérée à une valeur de 2 mg de carbonates exprimés en CO_2 .

♦ *Perte de poids à la dessiccation :*

BURSAUX a constaté que la perte moyenne de poids d'un os frais exposé à l'air et de 1 % en 10 minutes. Nous avons indiqué dans le tableau III les valeurs trouvées au cours de deux essais. Nous obtenons donc les mêmes résultats que cet auteurs.

Tableau III
Etude de la dessiccation à l'air ambiant.

Echantillon	1	poids frais	perte pondérale	Poids
Exposition	1 minute à l'air ambiant		0	0,508 g
" " " "	2 minutes " " " "		0,5 mg	
" " " "	10 minutes " " " "		3 mg	
" " " "	20 minutes " " " "		6 mg	
" " " "	30 minutes " " " "		13 mg	
" " " "			19 mg	0,489 g
Perte exprimée en pourcentage : 3,7 % en 30 minutes				
Echantillon	2	poids frais	perte pondérale	Poids
Exposition	2 minutes à l'air ambiant		0 mg	0,423 g
" " " "	5 minutes " " " "		2,5 mg	
" " " "	10 minutes " " " "		3,5 mg	
" " " "	30 minutes " " " "		6 mg	
" " " "			18 mg	0,405 g
Perte exprimée en pourcentage : 4,2 % en 30 minutes				

Le dosage des carbonates a été déterminé par titrimétrie après histolyse à chaud du fragment osseux. Sur le résidu d'histolyse nous réalisons le dosage du calcium et du phosphore. Certains contrôles ont été effectués en vue d'apprécier l'exactitude, la reproductibilité de la méthode, en tenant compte des facteurs susceptibles d'intervenir au cours de la mesure.

II - PARTIE ETUDE DYNAMIQUE

2 - 1 - Travaux antérieurs.

Il est nécessaire avant d'analyser nos résultats, de discuter les différentes théories émises sur la fixation tissulaire des carbonates. Nous envisagerons ensuite la nature du cristal osseux, car c'est par son intermédiaire que l'os participe à la régulation de l'équilibre acido-basique.

2 - 1 - 1 - RAPPEL DES DIFFERENTES EXPERIMENTATIONS ANIMALES ET HUMAINES.

Une étude bibliographique détaillée de ces protocoles a été réalisée à l'occasion du travail de thèse de Madame LEMMONIER-CHAPUY (67).

2 - 1 - 1 - 1 - *FIXATION TISSULAIRE DU CO₂ AU COURS D'UNE HYPERCAPNIE OU D'UNE ALCALOSE RESPIRATOIRE.*

2 - 1 - 1 - 1 - 1 - *Chez l'animal :*

Nous avons indiqué dans le tableau IV les protocoles utilisés.

Après une période dite de contrôle où tous les paramètres acidobasiques sont vérifiés, la quantité de CO₂ inspirée par l'animal est brusquement modifiée.

Trois méthodes d'étude sont possibles :

- ◇ On élève le taux de CO₂ inspiré, mais on garde une ventilation constante : on réalise ainsi une hypercarboxie.
- ◇ On hyperventile l'animal afin de simuler une alcalose respiratoire.
- ◇ On provoque une apnée pour explorer le CO₂ endogène. Dans tous les cas, la pO₂ doit rester constante pour éliminer l'effet BOHR et HALDANE.

Il est d'autre part indispensable de bloquer la respiration spontanée chez l'animal comme le chat et le chien par des anticholinergiques : NAHAS, SHAW, SULLIVAN (77 - 99 - 105).

La totalité du stockage osseux est déterminée comme étant la différence entre le CO₂ expiré et le CO₂ métaboliquement produit. En évaluant les modifications des réserves organiques par le bilan des entrées et des sorties du CO₂, et en mesurant les variations des pCO₂ artérielles, et veineuses mêlées, il est possible de connaître la distribution des carbonates. FARHI et RAHN ont élaboré des modèles mathématiques à partir de ces données ; leurs résultats ont été rapportés dans un travail précédent (67). Nous devons cependant insister sur le point suivant : ils éliminent de leurs calculs la graisse et l'os, car le coefficient de solubilité du CO₂ dans ces tissus est trop différent des autres tissus

Cependant, des déterminations directes des carbonates tissulaires ont été réa-

Tableau n° IV

Etude des modifications des électrolytes tissulaires
au cours d'épreuves d'hypercapnie.

NOM	Espèce utilisée	Durée de l'étude	% de CO ₂ utilisé
BUCHANAN (17 - 18)	rat]	14 jours	10 % de CO ₂
IRVING (61)	souris	30 minutes	6 à 9 % de CO ₂
LEVITIN (68)	chat	24 heures	8 % de CO ₂
SHAW (97 - 98)	rat	quelques minutes	7,5 % de CO ₂
FREEMAN-FENN (50)	chat	quelques jours à 28 jours	10 % de CO ₂
REICHART (91-92)	rat	plusieurs semaines	4 à 9 % de CO ₂
NICHOLS (80)	rat	30 minutes à 48 h.	24 % de CO ₂
VAN LIEW (109)	rat	1 semaine	19 % de CO ₂
BROWN (16)	chien	2 heures	30 % et 40 % de CO ₂
GIEBISCH (52)	chien	2 à 6 heures	12 % et 20 % de CO ₂
KASEMI (62)	chien	12 heures	7 % de CO ₂
SHAW (99)	chien	quelques minutes	10 % de CO ₂
FARHI-RAHN (40)	chien	30 à 45 minutes	non précisé.

Tableau n° V

Etude des modifications des électrolytes tissulaires au cours
d'épreuves d'acidose ou d'alcalose métabolique.

NOM	Espèce utilisée	Durée de l'étude	Trouble métabolique induit.
BANUS (9)	chien	1 à 2 heures	acidose
POST (86)	chien	1 à 5 heures	acidose
BURNELL (19)	chien	5 à 10 jours	acidose
GOTO (57)	chien]	4 à 6 jours	alcalose
		1 à 3 semaines	acidose
LEVITT (69)	rat	4 heures	acidose
IRVING (61)	[rat]	3 à 45 jours	acidose
	cobaye		
BURNS (20)	[lapin]	17 jours	acidose
	rat	17 jours	acidose
GOTO (57)	chat	1 à 3 semaines	acidose

lisées par d'autres auteurs comme FREEMAN, NICOLS, THOMPSON (50 - 80 - 107).

2 - 1 - 1 - 1 - 2 - *Chez l'homme :*

S'il est facile de mesurer le "compartiment carbonate" d'un animal anesthésié et curarisé, en déterminant le taux des carbonates dans les tissus avec les techniques indiquées dans notre premier chapitre, les procédés de prélèvements utilisés sont naturellement exclus chez l'homme. Cette exploration s'effectue le plus souvent chez des volontaires non anesthésiés qui contrôlent leur respiration : (26 - 73 - 46 - 47). Aucune détermination de carbonates tissulaires n'est pratiquée.

2 - 1 - 1 - 1 - 3 - *Les différentes hypothèses sur le rôle du tissu osseux dans l'hypercapnie :*

Les opinions divergent en ce qui concerne la rapidité d'utilisation des tampons osseux au cours d'une acidose respiratoire.

NICHOLS pense qu'il est nécessaire de dissocier dans l'hypercapnie l'influence de la $p\text{CO}_2$ et celle de l'acidose. Ainsi, durant les premières heures d'exposition dans une atmosphère enrichie de CO_2 , le pH s'effondre par diminution du taux de carbonates dans les liquides extracellulaires ; ceci entraîne une légère baisse des carbonates osseux. Et c'est seulement lorsque le pH revient à la normale (par réabsorption des carbonates au niveau rénal) que le stock des carbonates osseux augmente ; il faut 10 jours d'exposition dans cette atmosphère pour avoir une augmentation nette des réserves osseuses. En opposition, les carbonates des autres tissus augmentent rapidement au début de l'hypercapnie.

Ainsi, les carbonates osseux agiraient comme s'ils voulaient rétablir le niveau des bicarbonates au cours d'une acidose. A partir de ces données, FARHI et RAHN on représenté les différentes sources de stockage du CO_2 tissulaire et leurs interactions.

Il existe une deuxième possibilité : l'existence, au niveau de l'os, d'une fraction non négligeable de carbonates très rapidement échangeable. Pour BUCHANAN (18), 30 % des carbonates de l'os sont remplacés en 12 heures.

En fait, dans la littérature, cette hypothèse semble être confirmée par les épreuves d'acidose et d'alcalose, métabolique provoquées.

2 - 1 - 1 - 2 - *EXPERIENCES D'ACIDOSES ET D'ALCALOSES METABOLIQUES :*

2 - 1 - 1 - 2 - 1 - *Chez l'animal :*

Nous avons comme pour les protocoles précédents indiqué dans le tableau V les expériences les plus significatives. Tous les auteurs insistent sur la rapidité du pouvoir tampon osseux (depuis les travaux de KING GOTO).

2 - 1 - 1 - 2 - 2 - *Chez l'homme :*

LEHMAN (66) étudie les effets d'une surcharge acide au chlorure d'ammonium chez des individus normaux. Il considère, par l'étude du bilan des électrolytes et du bilan calcique, que, au cours d'une acidose métabolique, l'os est un tampon important et rapidement mobilisable.

PELLEGRINO (83) avait déjà mis en évidence ce pouvoir lorsqu'il déterminait la composition de l'os chez 54 malades décédés.

2 - 1 - 2 - RAPPEL SUR LA FRACTION INORGANIQUE DE L'OS.

Nous avons insisté dans le chapitre précédent sur l'importance du tissu osseux au cours d'une acidose ou d'une alcalose. Il convient maintenant d'envisager la nature de ce tampon.

2 - 1 - 2 - 1 - *COMPOSITION MINERALE DE L'OS.*

GABRIEL indique dès 1894 que le tissu osseux contient du calcium, du phosphore, du magnésium, du sodium, du potassium, des carbonates, des chlorures, des fluorures, et de l'eau. D'autres auteurs ont montré ultérieurement qu'il existe en plus du strontium, du manganèse, du zinc, du cuivre, de l'iode et des citrates. La majorité des études a été effectuée sur la partie corticale de l'os et les valeurs sont exprimées par rapport au poids d'os sec totalement dégraissé.

Nous indiquons dans le tableau VI la composition de l'os iliaque chez un sujet sain. Le rapport entre calcium et phosphore varie selon la quantité de carbonate ; les chercheurs insistent d'autre part sur les variations de la composition de l'os en fonction de l'âge SHEAR, KRAMER et PICKERING (64 - 84).

La teneur de l'os en carbonates est altérée par le régime alimentaire : SOBEL constate que le rapport CO_3/Ca est élevé en cas de régime hypercalcique et hypophosphorique et inversement (102).

Mais la structure moléculaire a pu être étudiée au cours des dernières années grâce à de nouvelles techniques comme la diffraction des rayons X, et la spectrographie infra-rouge.

2 - 1 - 2 - 2 - *NATURE DU CRISTAL D'OS.*

Deux théories sont proposées :

◆ Première théorie :

Le phosphate et le carbonate sont indépendants l'un de l'autre : la principale forme de cristallisation est l'hydroxyapatite $[(\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2)]$.

DALLEMAGNE et ses collaborateurs montrent qu'il peut exister du phosphate octocalcique et du phosphate tricalcique. Ces composés sont ensuite transformés en hydroxyapatite. Les carbonates sont sous la forme de CaCO_3 et MgCO_3 (4 - 16). Nous devons noter que toutes les études faites sur l'os sec

Tableau n° VI
Composition de la crête iliaque normale (AGNA et Coll.) (3).

	Valeur trouvée	Déviati on standard.
H ₂ O os frais (pourcentage)	25,8	± 4
graisse os sec (pourcentage)	14,1	± 7,3
H ₂ O en g par Kg d'os sec dégraissé	448	± 139
Ca en équivalent	11,4	± 0,64
P en g	100,5	± 5,1
CO ₃ en équivalent	1,61	± 0,08
Cl en mEq	41,1	± 8,6
K en mEq	38,9	± 9,4
Na en mEq	269	± 10,8

et dégraissé excluent la présence de bicarbonates. BERGSTROM pense que le carbonate de l'os existerait sous la forme Ca-O-COO-(Na) (10).

(K)

CONWAY suggère l'existence d'une forme carbaminée précipitable par la baryte (29).

♦ Deuxième théorie :

Le calcium, le phosphore, et les carbonates font partie d'une molécule unique appelée "carbonato-apatites". La spectrographie dans l'infra-rouge apporte une preuve supplémentaire (32 - 36).

Si nous considérons l'hydroxyapatite [Ca₁₀ (PO₄)₆ (OH)₂], des groupes phosphates ou hydroxyles peuvent être remplacés par des fonction CO₃²⁻ et même HCO₃⁻ (71 - 94). Les carbonates existent en faible quantité sous forme de CaCO₃ et MgCO₃.

Cette structure est adoptée par NEUMAN (79) qui considère que le cristal formé est une phase unique. Cet auteur a préparé dans des conditions presque physiologique de la carbonateapatite (en milieu 0,025 M de bicarbonate). Le cristal peut être réalisé à partir de la brushite CaHPO₄-2H₂O, à partir de la calcite : CaCO₃, et à partir du phosphate octacalcique [Ca₈H₂ (PO₄)₆]-5H₂O. NEUMAN montre aussi que la partie échangeable de l'os pour les carbonates est répartie dans l'enveloppe d'hydratation des cristaux vraisemblablement sous forme de bicarbonate, soit 60 % des carbonates totaux. Environ 50 % de ces bicarbonates sont perdus par dessiccation, si on pratique une étude chimique de l'os.

Si nous résumons l'ensemble de ces notions : nous retenons que chez l'homme seules les méthodes indirectes ont été utilisées pour définir le turnover des carbonates dans l'organisme. Le plus souvent, l'os est exclu de toute étude, car à priori, il est considéré comme tissu peu labile. Par opposition, les physiologistes qui utilisent l'animal admettent la présence d'une fraction importante de tissu à renouvellement rapide, ce qui paraît être confirmé dans l'étude de NEUMAN in vitro, et retrouvé in vivo par cet auteur.

2 - 2 - Travaux personnels.

2 - 2 - 1 - SUJETS ETUDIES.

2 - 2 - 1 - 1 - *POPULATION TEMOIN :*

Nous avons réalisé 15 biopsies osseuses chez des patients que nous considérons comme des “témoins relatifs”. Les malades choisis sont des sujets pour lesquels une indication de biopsie osseuse a été “posée” dans le but d’un diagnostic histologique (recherche d’une hyperparathyroïdie par exemple). Ils n’ont aucuns antécédents respiratoires. L’exploration fonctionnelle pulmonaire et l’étude des gaz du sang pratiquée le jour même de la biopsie osseuse sont normales. Nous avons éliminé de cette analyse les sujets qui présentaient une perturbation de cette exploration pulmonaire même s’ils présentaient des paramètres sanguins satisfaisants concernant leur équilibre acidobasique.

2 - 2 - 1 - 2 - *MALADES INSUFFISANTS RESPIRATOIRES CHRONIQUES :*

Il est tout d’abord utile de définir l’état stationnaire chronique ou aiguë chez un malade hypercapnique pour vérifier si nos malades constituent une classe relativement homogène.

♦ *Définition d’un steady state chronique ou aiguë :*

Les courbes de titration du CO_2 sanguin in vivo sont recherchées par de nombreux auteurs afin de définir la réponse des bases tampons de l’organisme au cours d’une hypercapnie. COHEN et SCHWARTZ (27) l’ont étudiée tout d’abord chez le chien. Cette investigation a été poursuivie chez l’homme par plusieurs équipes : BRACKETT et Coll., VAN YPERSELE et Coll., et ICHIYANAGI et Coll. (14 - 112 - 60).

La relation entre le pH et la pCO_2 a été étudiée chez les malades chroniques par VAN YPERSELE. Celui-ci avait réparti ses patients en 19 groupes définis par un intervalle de pCO_2 de ± 2 mm de mercure ; le premier groupe avait une pCO_2 de 39 mm de mercure, le dernier 76,9 mm de mercure. La droite de régression a été calculée à partir des moyennes de chaque groupe, elle correspond à l’équation $(\text{H}^+) = 0,30 \text{ pCO}_2 + 26,8$. BRACKETT a défini les conditions optimales pour une meilleure étude : choisir des malades hypercapniques depuis au moins 3 jours, sans variations importantes de la pCO_2 , apyrétiques, rééquilibrés au point de vue hydrominéral, à l’exclusion de malades diabétiques ou traités par des corticoïdes ou des diurétiques.

La même étude a été faite par l'école de SCHWARTZ, soit chez l'animal, soit chez l'homme au cours d'acidoses respiratoires aiguës ; l'équation de régression peut s'écrire (H^+) = $0,77 \text{ pCO}_2 + 8$.

WEISS a établi une relation correspondant à l'apparition d'une phase aiguë au cours d'une hypercapnie chronique (113) : l'équation de régression est (H^+) = $0,49 \text{ pCO}_2 + 16,6$.

Si nous reportons sur un même graphique ces trois droites avec leur intervalle de confiance $\pm 2 \text{ SD}$, il est ainsi possible de définir 5 zones (schéma 4) :

- 1e zone* : acidose respiratoire aiguë avec composante acide métabolique.
- 2e zone* : acidose respiratoire aiguë.
- 3e zone* : aggravation d'une acidose respiratoire chronique, ou passage d'un état aigu à un état chronique.
- 4e zone* : acidose respiratoire chronique.
- 5e zone* : acidose respiratoire chronique avec alcalose métabolique surajoutée.

Un malade en steady state chronique peut être défini comme ayant, pour un état respiratoire donné, (si nous tenons compte du schéma précédent) des variations de pH et de pCO_2 inférieure à 10 % pendant au moins trois jours (37).

Certains auteurs insistent sur l'importance de l'équilibre hydrominéral du sujet. Pour notre part, il nous est impossible de satisfaire à toutes les conditions puisque nos malades sont dans l'ensemble très largement perfusés. Nous avons cependant tenu compte de l'excrétion acide urinaire nette telle que la définit SCHWARTZ : [acidité titrable + azote ammoniacal] - bicarbonates.

L'école de SCHWARTZ a donné aussi une définition de l'état aigu stationnaire chez un sujet. Nous le rappelons ici pour mémoire : aggravation brusque d'un malade à un niveau de pH pCO_2 , constant pendant 15 à 20 minutes.

◆ *Etat respiratoire des malades étudiés :*

Tous nos malades se situent dans l'intervalle de confiance défini par WEISS pour un état aigu compliquant un état chronique. Notre population semble donc être homogène ; cependant la corrélation entre la pCO_2 et le pH calculé au moyen du coefficient de SPEARMAN* est très variable d'un sujet à l'autre, ce qui montre la difficulté d'avoir en clinique humaine un lot de sujets comparables (les valeurs sont comprises entre - 0,25 et + 0,95).

* Calcul du coefficient de SPEARMAN :
$$r_s = \frac{1 - 6 \sum d_i^2}{n(n^2 - 1)}$$
 où $d_i = r_i - r'_i$
 r_i rang de x_i
 r'_i rang de Y_i
 n nombre de couple (x_i, y_i)
 $-1 \leq r_s \leq 1$

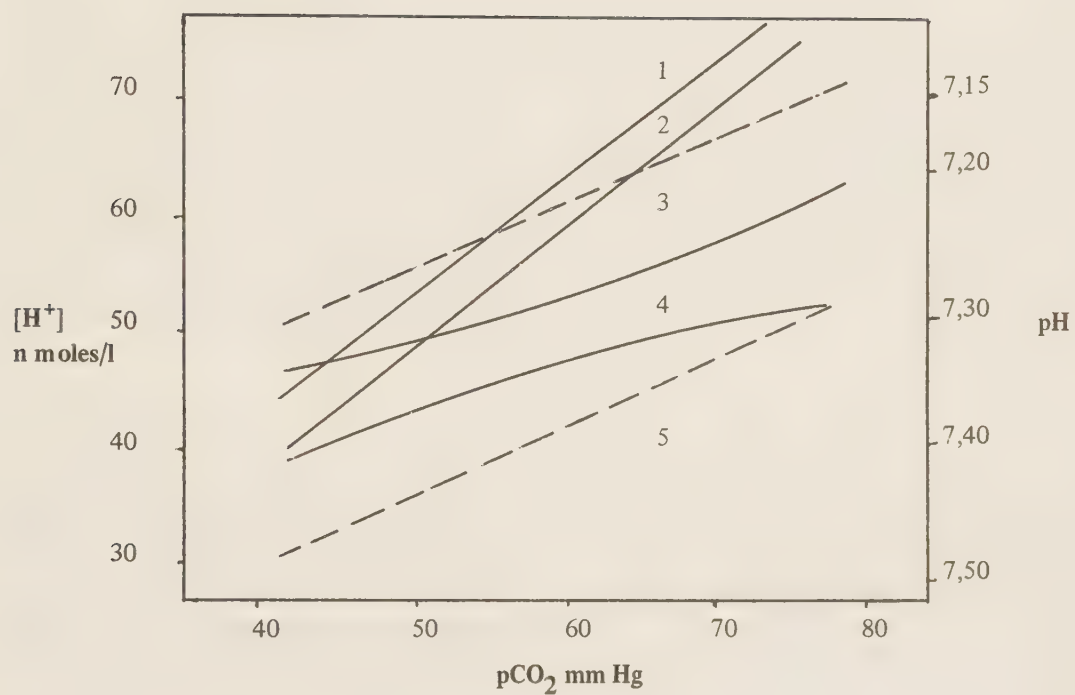


Schéma 4 : Relations entre le pH et la $p\text{CO}_2$ d'après VAN YPERSELE et WEISS.

♦ *Résumé des observations des 13 malades ayant fait l'objet de notre étude :*

Observation 1

JAN ... 44 ans sexe M.

Malade tuberculeux, insuffisant respiratoire traité en milieu sanatorial pendant 25 ans par différentes techniques médicales et chirurgicales. Depuis plusieurs années, son état d'insuffisance respiratoire le confine à la chambre. Une encéphalopathie respiratoire nécessite une intubation nasotrachéale et une ventilation assistée du 8 Août au 14 Septembre 1971 ; le malade est détubé, mais il ne s'adapte pas à la ventilation au masque. Une nouvelle décompensation impose une ventilation définitive par trachéotomie à partir du 25 Septembre. Cette décompensation en 11 jours s'est faite sans cause apparente sur le plan clinique et biologique, le malade suivant strictement la pente chronique de VAN YPERSELE : (pH 7,25 pCO₂ 97 mm de Hg). Son état n'a pas permis une exploration pulmonaire. Ce malade est décédé à la suite d'une reprise évolutive de la tuberculose malgré la ventilation assistée.

Observation 2

DID ... 62 ans sexe M.

Ce malade présente une première décompensation respiratoire à la suite d'une bronchite chronique ancienne aggravée par des séquelles pleurales : pleurésie purulente dans l'adolescence, et tuberculose récente avec caverne du sommet droit et laryngite tuberculeuse. On ne possède pas de données spirographiques. Le transfert dans le service est justifié par une encéphalopathie respiratoire et une acidose respiratoire importante : pH 7,32 pCO₂ 78 mm Hg. On essaye la ventilation au masque du 13 au 27 Octobre 1971 : on note une amélioration de l'état respiratoire uniquement lorsque le malade utilise le masque. C'est pourquoi on décide une intubation pour une ventilation assistée qui dure du 27 Octobre au 15 Novembre 1971. Le malade sort du service avec des gaz du sang normaux : pH 7,42 pCO₂ 40 mm Hg. En résumé, insuffisance respiratoire chronique obstructive et restrictive.

Observation 3

LOZ ... 44 ans sexe M.

L'évolution de ce malade est comparable à celle relatée dans la première observation (tuberculeux traité en milieu sanatorial). Son état nécessite une ventilation par intubation nasotrachéale du 15 Janvier au 8 Février 1972. Les épreuves de sevrage habituelles laissent espérer la possibilité d'une ventilation spontanée ou pratiquée à l'aide d'un embout buccal. Détubé le 8 Février, ce malade se décompense progressivement entre le 8 et le 17 Février. L'état clinique et biologique impose une intubation suivie d'une trachéotomie définitive. Ce malade est transféré à nouveau dans un service de ventilation chronique. Il a besoin à l'heure actuelle d'une ventilation 24 heures sur 24, le sevrage n'étant supporté qu'une dizaine de minutes environ.

Observation 4

RAS ... 51 ans sexe M.

Emphysémateux pulmonaire ancien, ce malade est hospitalisé à plusieurs reprises pour décompensation respiratoire. La première a lieu en 1965 et entraîne la mise en invalidité du malade

Son insuffisance respiratoire se décompense avec survenue d'un coma hypercapnique en Mars 1970. Nouvel épisode comateux en Mars 1971, ce qui nécessite une ventilation assistée du 22 Mars au 1er Juin 1971. L'exploration fonctionnelle pulmonaire indique une capacité vitale à 47 % de la valeur théorique, le rapport $\frac{\text{volume expiratoire maximum seconde}}{\text{capacité vitale}}$ étant à 45 %.

La mesure du transfert de l'oxyde de carbone (T.L. CO.) par la méthode de l'apnée est impossible compte tenu de l'importance de l'insuffisance respiratoire. Le retour à domicile avec une ventilation à l'aide d'un embout buccal est cependant possible. Après un nouvel épisode inquiétant en Septembre 1971 (pH 7,25 — pCO₂ : 86 mmHg) suivi d'une amélioration, le malade revient le 7 Décembre, et son état nécessite alors une nouvelle ventilation assistée du 8 au 17 Décembre par intubation nasotrachéale. La trachéotomie est finalement acceptée par le malade qui peut rejoindre son domicile le 27 Janvier 1972. L'état reste cependant précaire avec une ventilation obligatoire plus de 15 heures par jour. Il doit rester chez lui et une épreuve d'effort minime, pédalage à vide, aggrave son état tant sur le plan biologique qu'hémodynamique.

Observation 5

EVA ... 76 ans sexe M.

Sujet reçu en état de détresse respiratoire au cours d'une septicémie à staphylocoques avec localisation cutanée et pulmonaire. On ne possède aucun renseignement sur les antécédents (la vérification anatomique faite le 7 Mars 1972 permet d'affirmer les séquelles de pleurésie ancienne bilatérale et l'existence de lésions emphysémateuses de moyenne importance). Le malade est intubé du 30 Décembre au 25 Janvier 1972. Il est détubé le 25 sur les critères classiques biologiques et cliniques, mais il est réintubé le 28 Janvier à l'occasion d'une occlusion aiguë de l'intestin grêle. Le malade décède à la suite de complications post-opératoires de type infectieux avec septicémie à levures.

Observation 6

FEN... 25 ans sexe F.

Cette malade présente une cyphoscoliose essentielle pour laquelle elle a subi une greffe en 1960. Une décompensation respiratoire nécessite une intubation et une ventilation assistée de 15 jours du 6 au 21 Décembre 1971. Une ventilation avec l'aide d'un embout buccal est ensuite possible. A l'heure actuelle, la malade est maintenue traction par "halo". Une opération de Harrington est prévue pour Juin 1972.

Observation 7

HYA ... 66 ans sexe M.

Cet ancien militaire dégagé des Cadres en 1946 après pleurésie tuberculeuse présente une insuffisance respiratoire sur un terrain de bronchite chronique depuis 1962. Ceci l'oblige à arrêter son activité. Une décompensation respiratoire en 1970 est traitée à l'Hôpital de Mâcon ; une nouvelle décompensation en Novembre 1971 oblige le malade à être hospitalisé dans le service. On note une insuffisance cardiaque droite, un foie cardiaque et un épanchement ascitique. Le malade est traité par la triamcinolone depuis 1967 (8 à 12 mg/jour). Son état nécessite une ven-

tilation assistée par intubation puis par trachéotomie. L'autonomie ventilatoire ne peut en aucun cas dépasser 1 heure par jour.

Observation 8

DEV ... 69 ans sexe M.

Insuffisant respiratoire depuis l'âge de 55 ans sur un terrain de bronchite chronique ; ce malade hospitalisé à plusieurs reprises. La première série de mesures correspond à une décompensation du 1er au 21 Juillet 1971 au cours de laquelle une obésité importante est corrigée. Ce malade peut rentrer chez lui avec une ventilation par embout buccal. Des séances de gymnastique doivent améliorer son état. Le malade est réhospitalisé après une nouvelle décompensation le 1er Avril 1972. Celle-ci fait suite à une atelectasie du poumon gauche par néoplasme de la bronche souche gauche.

Observation 9

PER ... 60 ans sexe M.

Ce malade est un bronchiteux chronique. Un premier épisode de décompensation nécessite une intubation nasotrachéale en 1970. Le retour à domicile est possible avec une ventilation par embout buccal. Une nouvelle décompensation en Mars 1972 sans facteur métabolique ou infectieux surajouté oblige le malade à être à nouveau intubé pendant 3 semaines. Le malade peut de nouveau rentrer chez lui, mais son état reste précaire.

Observation 10

GAV ... 70 ans sexe M.

Sur un terrain de bronchite chronique, cet insuffisant respiratoire se décompense pour la première fois en 1969. Une nouvelle décompensation en Mars 1972 nécessite une intubation de 3 semaines. Le malade peut ensuite retourner chez lui sans que son état ne s'aggrave de nouveau.

Observation 11

DAM ... 50 ans sexe M.

Ce malade possède un emphysème avec "critères spirographiques et radiologiques" $CV = 55 \%$ de la théorique, $\frac{V.E.M.S.}{C.V.} = 49 \%$, $\frac{\text{Volume résiduel}}{\text{Capacité pulmonaire totale}} = 52 \%$ (coefficient de COUR-
NAND).

On note une décompensation au cours de laquelle domine l'hypoxie. La cachexie est importante. Son état nécessite une ventilation assistée par intubation. Un essai de détubation se révèle sans succès alors que les paramètres biologiques et cliniques semblaient satisfaisants. La ventilation assistée définitive par trachéotomie se révèle obligatoire.

Observation 12*GIA ... 55 ans sexe F.*

Cette malade est une ancienne tuberculeuse traitée par collapsothérapie bilatérale, puis par antibiothérapie. Une bronchite chronique répondant aux critères de la Communauté Européenne du Charbon et de l'Acier est à la base de son insuffisance respiratoire. La malade est ventilée d'abord par intubation nasotrachéale, mais elle revient en urgence le 10 Mars 1972 pour une dyspnée symptomatique d'une sténose trachéale. La malade est trachéotomisée et soumise à une ventilation définitive.

Observation 13*CHI ... 50 ans sexe F.*

Une bronchite chronique ancienne chez une obèse de 102 Kg pour 1,51 m nécessite une ventilation assistée pendant 24 jours. On note au cours de l'hospitalisation une discrète correction de l'obésité (perte de poids de 18 Kg). La malade sort du service avec un état respiratoire satisfaisant.

2 - 2 - 2 - METHODE D'ETUDE ITERATIVE :

L'état respiratoire des 13 malades décrits dans le paragraphe précédent a imposé une assistance respiratoire. Nous avons fait des prélèvements osseux et sanguins pendant la période de décompensation puis après le début de l'assistance ventilatoire pour les malades 1 à 4. Nous avons seulement étudié l'épuration du CO₂ par la ventilation assistée, en prenant comme point de référence le moment de l'intubation : malades 5 à 12.

En ce qui concerne le dernier malade : observation n° 13, notre étude a débuté 12 heures après l'intubation.

Nous avons généralement essayé de noter l'évolution des carbonates osseux au cours des 48 heures qui suivent l'intubation ou la trachéotomie, puis ensuite dans des délais très variables d'un sujet à l'autre pour des raisons diverses : état du malade, contrôle périodique de la technique de dosage ...

2 - 2 - 3 - PRELEVEMENTS REALISES :**2 - 2 - 3 - 1 - BIOPSIE OSSEUSE :**

Le prélèvement est réalisé par pontion biopsie "transfixiante" de la crête iliaque par le trocard de BORDIER (12)*.

Le trocard est formé d'une double couronne dentée. La tige guide du tube for-

* Société EPDI - 163, rue St-Maur - PARIS 2ème,
Maison LEPINE - Place des Terreaux - 69 - LYON

reur est muni d'une couronne de dents, ce qui permet un bon amarrage sur le périoste. La pénétration du trocard est limité par sa garde.

Le niveau de prélèvement se situe au niveau de la crête iliaque. Le repère conseillé pour la première biopsie est 2 centimètres en arrière de l'épiphyse iliaque antéro supérieure et 2 centimètres en dessous du bord supérieur de la crête iliaque. Lors des biopsies itératives, les prélèvements sont faits dans des régions se situant en arrière du point de départ. Les prélèvements sont faits alternativement sur une crête et sur l'autre.

On réalise une analgésie à la Péthidine ND : 1 mg en sous-cutané associé, lorsque le malade est sous ventilation assistée - 12 mg de Théralène ND. Une anesthésie locale est réalisée avec de la Xylocaïne à 2 % et elle intéresse les plans superficiels et le périoste.

Une asepsie chirurgicale débordant largement la zone biopsée est faite. L'opérateur étant habillé, ganté, masqué, la zone intéressée est recouverte d'un champ stérile.

La douleur provoquée est minime de telle sorte que pour un certain nombre de biopsies, le prélèvement est réalisé uniquement sous anesthésie locale. C'est le cas chez les sujets qui ne sont pas sous ventilation.

Aucun incident n'a été signalé sur plus de 400 prélèvements réalisés en vue d'une étude chimique ou histologique.

Le prélèvement permet d'obtenir une "carotte". Il s'agit d'un cylindre osseux ayant environ 6 cm de haut et 10 à 14 mm de diamètre. Le poids varie en général de 200 mg à 500 mg. Cette "carotte" est rapidement mise dans un tube de petite contenance stérile et hermétique ; elle est envoyée immédiatement au laboratoire.

2 - 2 - 3 - 2 - *PRELEVEMENTS SANGUINS :*

Au moment de chaque biopsie, une prise de sang est effectuée pour analyse des gaz du sang.

Deux techniques ont été utilisées :

- 1 — microméthode sur sang capillaire artérialisé,
- 2 — prélèvement artériel au niveau de l'artère fémorale sur seringue héparinée.

Les résultats obtenus par ces deux méthodes sont superposables.

2 - 2 - 4 - *PARAMETRES ETUDIES :*

2 - 2 - 4 - 1 - *PARAMETRES OSSEUX :*

Nous avons dosé les carbonates, le calcium et le phosphore et établi les rapports

CO_2/Ca et Ca/P .

2 - 2 - 4 - 2 - *PARAMETRES SANGUINS :*

Nous avons retenu comme paramètres : le pH, le CO_2 total, la pCO_2 et les bases excess*, déterminés soit par la méthode d'ASTRUP, soit à l'aide d'un ensemble Radiometer BMS 3 avec une électrode à pCO_2 (100). Nous n'avons pas tenu compte de la pO_2 car les résultats sur sang artérialisé peuvent être variables d'un prélèvement à l'autre.

2 - 2 - 5 - RESULTATS :

2 - 2 - 5 - 1 - *SUJETS TEMOINS :*

Nous avons indiqué dans le tableau VII les valeurs trouvées chez les 15 sujets répartis en deux classes : malades âgés de moins de 45 ans, malades âgés de plus de 45 ans. Nous avons calculé les moyennes pour les taux de carbonates osseux et pour le rapport CO_2/Ca : ces calculs montrent une différence significative du rapport CO_2/Ca dans les deux classes d'âge indiquéesci-dessus, différence rapportée dans des travaux antérieurs publiés dans la littérature.

2 - 2 - 5 - 2 - *ETUDE DYNAMIQUE :*

Tous nos résultats sont condensés dans les tableaux VIII à XVIII. Chaque série de dosages correspond au numéro de l'observation. Dans la colonne correspondant à la ventilation assistée, le mode de ventilation est signalé : trachéotomie ou intubation. Dans la dernière colonne : nous indiquons la nature de la médication en ne retenant que les corticoïdes, les vitamines D ou le phosphore. Nous nous sommes limités à ces médicaments pour ne pas faire une liste exhaustive de la thérapeutique appliquée. Il est d'ailleurs probable que de nombreux produits modifient la trame osseuse, mais le nombre relativement réduit de prélèvements ne nous autorise pas à une analyse plus poussée dans ce domaine.

* Les bases excess peuvent être définies comme l'alcalinité titrable du sang dans certaines conditions :

- sang amené à pH 7,40
- température de 38°C
- pCO_2 de 40 mm de Hg.

Tableau n° VII

Détermination des carbonates, du calcium et du phosphore osseux chez 15 témoins répartis en 2 classes d'âge.

NOM	âge	carbonates exprimés en CO ₂ mg/g d'os frais.	Ca en mg/g d'os frais.	P en mg/g d'os frais.	CO ₂ /Ca	Ca/P
RIG.	16 ans	92	93	78	0,99	1,19
CAT.	26 ans	70	89	52	0,79	1,71
SAU.	30 ans	65	122	72	0,53	1,69
CLA.	38 ans	132	126	50	1,04	2,52
ANC.	42 ans	73	88	40	0,82	2,20
MEH.	44 ans	88	109	38	0,81	2,86
COR.	44 ans	58	89	46	0,65	1,93
HOC.	44 ans	72	114	48	0,63	2,37

moyenne des carbonates osseux = 81 mg/g d'os frais.

moyenne du rapport CO₂/Ca = 0,78

NOM	âge	carbonates exprimés en CO ₂ mg/g d'os frais.	Ca en mg/g d'os frais.	P en mg/g d'os frais.	CO ₂ /Ca	Ca/P
REB.	50 ans	87	100	54	0,87	1,85
CY.	52 ans	80	83	38	0,96	2,18
DUL.	60 ans	154	80	53	1,92	1,50
DUR.	60 ans	157	98	39	1,60	2,51
MOR.	61 ans	120	89	43	1,34	2,06
ADR.	70 ans	171	124	62	1,37	2
RIV.	76 ans	128	47	21	2,72	2,23

moyenne des carbonates osseux = 89 mg/g d'os frais.

moyenne du rapport CO₂/Ca = 1,54

Date	SANG				TISSU OSSEUX						Ventila- tion assistée.	Médica- tion
	pH	Base excess. meq/l	CO ₂ total meq/l	PCO ₂ mm Hg	Carbona- tes expri- més en CO ₂ mg/g d'os frais.	Calcium en mg/g d'os frais.	Phospho- en mg/g d'os frais.	CO ₂ /Ca	Ca/P			
18/8	7,42	- 3,5	31	21	184	92	92	2	1	intubé +		phospho- re
8/9	7,43	+ 2	27,5	40	338	81	81	4,17	1	+		phospho- re
14/9	7,30	- 4	28,5	46	308	109	49	2,82	2,22	+		
17/9	7,32	+ 7,5	39,5	72	311	88	32	3,53	2,75	0		
24/9	7,25	+ 9	44	97	228	34	15	6,70	2,26	0 trachéoto- mie.		
27/9	7,34	- 3	23,5	42	426	71	31	6	2,29	+		
29/9	7,41	+ 2	27,5	42	303	58	54	5,22	1,07	+		

Tableau VIII

Variation des carbonates osseux au cours du temps : malade 1.

DL. 62 ans.

Date	SANG				TISSU OSSEUX						Ventila- tion assistée.	Médica- tion
	pH	Base excess. meq/l	CO ₂ total meq/l	PCO ₂ mm Hg	Carbona- tes ex- primés en CO ₂ mg/g d'os frais .	Calcium en mg/g d'os frais.	Phospho- en mg/g d'os frais.	CO ₂ /Ca	Ca/P			
16/10	7,34	+ 6	37,5	66	215	149	59	1,44	2,52	0		
27/10	7,31	+ 4,5	37	70	541	56	34	9,66	2,33	0 intubation		
28/10	7,42	+ 4	24,5	43	462	80	48	5,77	1,66	+		
29/10	7,40	- 1	28,5	38	343	135	58	2,54	2,32	+		
4/11	7,41	+ 2	28,5	43	158	82	52	1,93	1,57	+		

Tableau n° IX

Variation des carbonates osseux au cours du temps : malade 2.

Date	SANG				TISSU OSSEUX						Ventila- tion assistée.	Médica- tion
	pH	Base excess. meq/l	CO ₂ total meq/l	PCO ₂ mm Hg	Carbona- tes ex- primés en CO ₂ mg/g d'os frais.	Calcium en mg/g d'os frais.	Phospho- en mg/g d'os frais.	CO ₂ /Ca	Ca/P			
8/2	7,35	+ 6	30	61	142	79	43	1,79	1,84	0		
12/2	7,38	+ 8,5	38,5	62	147	62	30	2,37	2,07	0		
17/2	7,27	+ 7	38,5	80	173	73	51	2,37	1,43	0	intubation	
18/2	7,29	+ 4	35	69	95	74	63	1,28	1,17	+		
20/2	7,38	0	24	44	288	63	41	4,57	1,53	+		
25/2	—	—	—	—	108	92	44,5	1,17	2,07	+		

Tableau n° X

Variation des carbonates osseux au cours du temps : malade 3.

RAS. 51 ans.

Date	SANG				TISSU OSSEUX						Ventila- tion Assistée.	Médica- tion.
	pH	Base excess. meq/l	CO ₂ total meq/l	PCO ₂ mm Hg	Carbona- tes expri- més en CO ₂ mg/g d'os frais.	Calcium en mg/g d'os frais.	Phospho- en mg/g d'os frais.	CO ₂ /Ca	Ca/P			
30/9	7,35	+ 2	30,5	53	572	98	46	5,83	2,13		0	
8/12	7,25	+ 4	40	86	572	61,5	38,5	9,30	2,41		0	
9/12	7,43	+ 3	28	42	148	77,5	41,5	1,90	1,86		+	
17/12	7,23	+ 3	31,6	80	213	63,5	40	3,35	1,58		+	

EVAN. 76 ans

SERIE V

28/1	7,20	+ 4	33,5	85	141	75	22,5	1,88	3,33		0	sterogyl 23 - 24
29/1	7,35	+ 5,5	31,5	56	83	92	33	0,90	2,74		+	phosphore 23 et 24
30/1	7,35	+ 5,5	27,4	52	101	76	21	1,32	3,61		+	
7/2	7,33	+ 4	31,3	59	84	76	41	1,10	1,85		+	

Tableau n° XI

Variation des carbonates osseux au cours du temps : malade 4 - malade 5.

SERIE VI

FEN. 25 ans.

Date	SANG				TISSU OSSEUX					Médica- tion.
	pH	Base excess. meq/l	CO ₂ total meq/l	PCO ₂ mm Hg	Carbona- tes expri- més en CO ₂ mg/g d'os frais.	Calcium en mg/g d'os frais.	Phospho- en mg/g d'os frais.	CO ₂ /Ca	Ca/P	
6/12	7,41	+ 11	42	63	319	68	36	4,69	1,88	0 intubation +
7/12	7,53	+ 1	23,2	27	150	99	55,5	1,51	1,78	
13/12	7,45	- 3,5	27	27	118	69	35,5	1,71	1,94	+

HYA. 66 ans.

SERIE VII

5/11	7,38	+ 3	32	52	248	59,5	40	4,16	1,49	0 intubation +
8/11	7,42	+ 2	23	34	258	93	38,5	2,77	2,41	
14/11	7,41	+ 5	37	50	58,5	77,5	41,5	0,75	1,86	+
19/11	7,43	+ 7	35	55	209	63,5	40	3,30	1,58	+

Tableau n° XII

Variation des carbonates osseux au cours du temps : malade 6 - malade 7.

Date	SANG				TISSU OSSEUX					Ventila- tion assistée.	Médica- tion.
	pH	Base excess. meq/l	CO ₂ total meq/l	PCO ₂ mm Hg	Carbona- tes expri- més en CO ₂ mg/g d'os frais.	Calcium en mg/g d'os frais.	Phospho- en mg/g d'os frais.	CO ₂ /Ca	Ca/P		
30/6	7,27	- 3	27,5	59	123	80	40	1,53	2	0 intubation +	corticoï- des
1/7	7,33	+ 2	31	57	92	82	59	1,12	1,38		corticoï- des
2/7	7,41	+ 2	28,5	43	53	61	34	0,86	1,81	+	
5/7	7,35	+ 3	32	55	79	79	22	1	3,59	+	
8/7	7,32	- 1	27,5	51	53	49	26	1,07	1,88	+	
31/3	7,25	- 2	27	63	70,5	64	33	1,10	1,93	0 intubation	hydrocor- tisine 200 mg
1/4	7,42	+ 1	20	32	66	50	39	1,32	1,28	+	
6/4	7,38	- 8,5	16	26	83	104	55	0,79	1,89	+	
11/4	7,46	- 4	18,5	26	89	67	39	1,32	1,71	+	phospho- re le 9/4.

Tableau n° XIII

Variation des carbonates osseux au cours du temps - malade 8.

Date	SANG				TISSU OSSEUX					Ventila- tion assistée.	Médica- tion.
	pH	Base excess. meq/l	CO ₂ total meq/l	PCO ₂ mm Hg	Carbona- tes expri- més en CO ₂ mg/g d'os frais.	Calcium en mg/g d'os frais.	Phospho- en mg/g d'os frais.	CO ₂ /Ca	Ca/P		
3/3	7,34	+ 7	38	66	185	61	16	3,03	3,81	0 intubation +	
4/3	7,36	+ 3	31,5	53	98	90	43	1,08	2,09		
6/3	7,43	+ 2	27,5	40	138	86	40	1,60	2,15	+	
8/3	7,41	+ 1	25	37	216	77	43	2,80	1,79	+	
10/3	—	—	—	—	233	101	41	2,30	2,46	+	
13/3	7,34	- 1	27	49	140	107	40	1,30	2,67	+	
18/3	7,45	- 2	27,5	30	297	90	34	3,30	2,64	+	

Tableau n° XIV

Variation des carbonates osseux au cours du temps : malade 9.

Date	SANG				TISSU OSSEUX						Ventila- tion assistée.	Médica- tion.
	pH	Base excess. meq/l	CO ₂ total meq/l	PCO ₂ mm Hg	Carbona- tes expri- més en CO ₂ mg/g d'os frais.	Calcium en mg/g d'os frais.	Phospho- en mg/g d'os frais.	CO ₂ /Ca	Ca/P			
29/3	7,35	+ 5	35,5	62	103	62	33	1,66	1,87	0 intubation +		
30/3	7,38	+ 2	30	49	46	73	40	0,63	1,82			
31/3	7,35	+ 2	30,5	53	43	70	32	0,61	2,18	+		
1/4	7,41	+ 3	29,5	45	84	89	45	0,94	1,97	+		
5/4	7,25	- 5,5	23	48	106	111	49	0,95	2,26	+		

Tableau n° XV

Variation des carbonates osseux au cours du temps : malade 10.

Date	SANG				TISSU OSSEUX					Ventila- tion assistée.	Médica- tion.
	pH	Base excess. meq/l	CO ₂ total meq/l	PCO ₂ mm Hg	Carbona- tes expri- més en CO ₂ mg/g d'os frais.	Calcium en mg/g d'os frais.	Phospho- en mg/g d'os frais.	CO ₂ /Ca	Ca/P		
14/2	7,41	+ 5,5	32,5	49	106	80	36	1,32	2,22	0	intubation +
15/2	7,43	+ 2	27,5	40	154	86	49	1,80	1,75	+	
16/2	7,42	- 3	21	31	105	56	39	1,87	1,43	+	
18/2	7,27	- 6,5	21	44	87	52	50	1,67	1,04	+	
23/2	7,41	- 1	24,2	37	54	59	23	0,91	2,56	+	
7/3	—	—	—	—	150	82	37	1,82	2,21		

Tableau n° XVI

Variation des carbonates osseux au cours du temps : malade 11.

Date	SANG				TISSU OSSEUX					Ventila- tion assistée.	Médica- tion.
	pH	Base excess. meq/l	CO ₂ total meq/l	PCO ₂ mm Hg	Carbona- tes expri- més en CO ₂ mg/g d'os frais.	Calcium en mg/g d'os frais.	Phospho- en mg/g d'os frais.	CO ₂ /Ca	Ca/P		
10/3	7,43	+ 6,5	34	49	187	138	53	1,35	2,60	0	triamcina- lone.
11/3	7,56	+ 0,5	21,3	23	147	59	27	2,49	2,19	trachéoto- mie. +	
13/3	7,40	- 2	22	36	146	82	32	1,78	2,56	+	
15/3	7,41	- 2	22	35	289	157	63	1,84	2,50	+	
17/3	7,43	+ 1,8	27	35	257	72	30	3,56	2,40	+	

Tableau n° XVII

Variation des carbonates osseux au cours du temps : malade 12.

Date	SANG				TISSU OSSEUX					Ventila- tion assistée.	Médica- tion.
	pH	Base excess. meq/l	CO ₂ total meq/l	PCO ₂ mm Hg	Carbona- tes expri- més en CO ₂ mg/g d'os frais.	Calcium en mg/g d'os frais.	Phospho- en mg/g d'os frais.	CO ₂ /Ca	Ca/P		
12/4	7,38	- 1	24	40	79	111	80	0,71	1,38	+	
13/4	7,40	- 2	22,5	35	89	63	53	1,41	1,18	+	
15/4	7,41	- 2	22	33	87	66	56	1,31	1,18	+	
17/4	7,39	- 2	23,3	37	85	80	65	1,06	1,23	+	
20/4	7,40	0	39	24	79	80	70	0,98	1,14	+	

Tableau n° XVIII

Variation des carbonates osseux au cours du temps : malade 13.

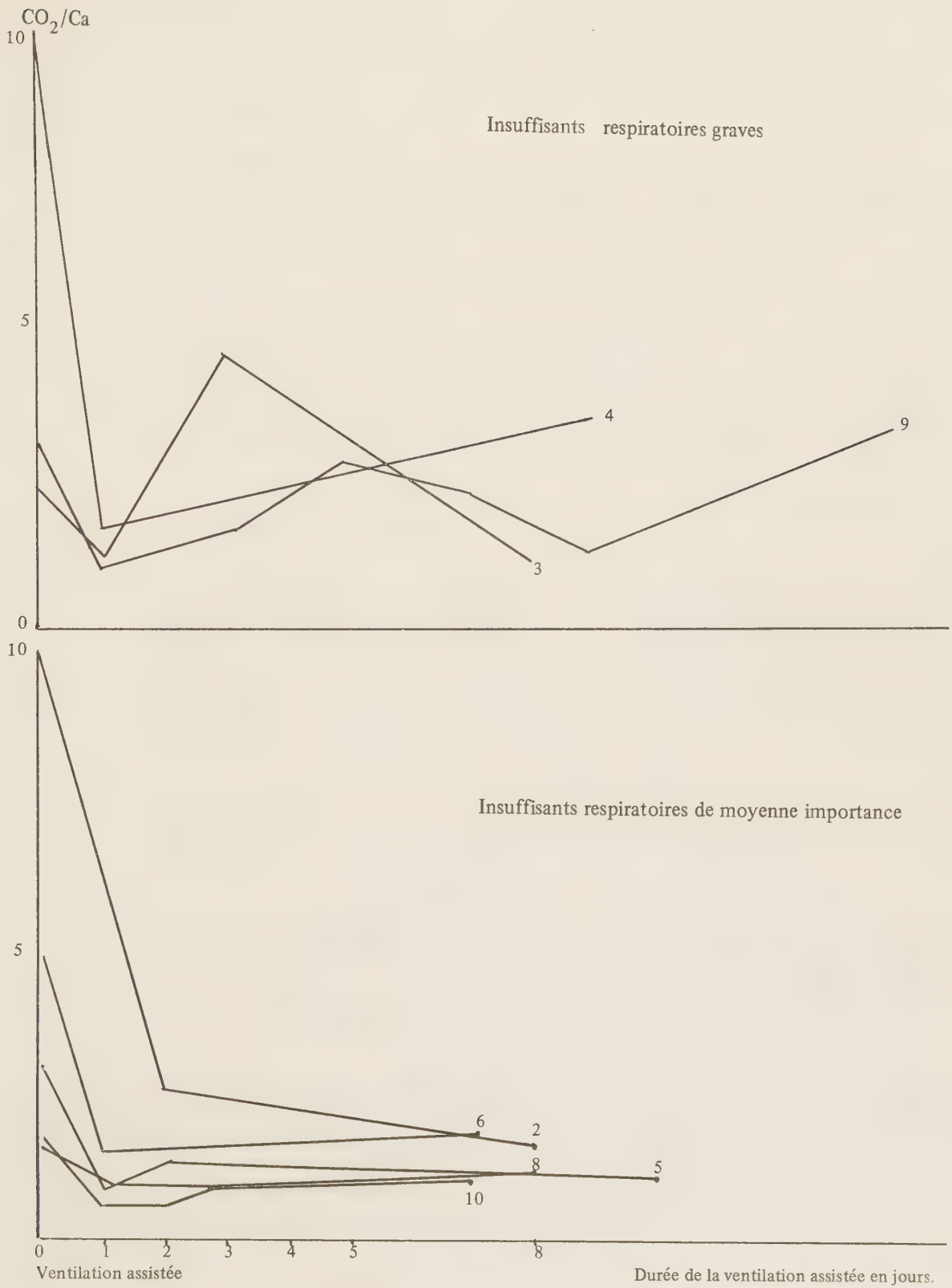


Schéma 5 : Evolution du rapport CO_2/Ca au cours de la ventilation assistée.

2 - 2 - 5 - 3 - COMMENTAIRES :

♦ *Evolution du rapport CO_2/Ca au cours de la ventilation assistée :*

Il existe une grande disparité dans les valeurs de ce rapport avant l'intubation (de 1,10 à 9,66). La moyenne de ce rapport est chez les sujets témoins de 1,16 pour 3,83 chez les malades insuffisants respiratoires.

Nous avons représenté sur le schéma n° 5 les variations de ce rapport en fonction du temps : juste avant, et après la trachéotomie ou l'intubation. Pour huit malades, ce rapport diminue de façon importante dans les 24 heures ou les 48 heures qui suivent l'assistance respiratoire. Les modifications du rapport pour le 1er et le 7ème malades n'ont pas été indiquées car il s'est écoulé 3 jours entre la biopsie osseuse pratiquée avant la trachéotomie et le prélèvement suivant.

Les résultats de la série 11 et 12 paraissent discordants. Nous reviendrons dans la discussion sur le malade 11.

En ce qui concerne les modifications de ce rapport après le 2ème et le 3ème jour, nous n'avons trouvé aucune corrélation entre le rapport CO_2/Ca et la détermination du pH et de pCO_2 faite le jour de la ponction biopsie osseuse, pour l'ensemble des malades analysés. Il semble cependant que le rapport CO_2/Ca soit très instable après quelques jours de ventilation chez les malades insuffisants respiratoires graves ventilés définitivement, alors que ce rapport reste relativement constant chez les insuffisants respiratoires de moyenne importance.

♦ *Evolution du rapport CO_2/Ca au moment de la décompensation :*

On note une élévation de ce rapport dans les jours ou les semaines qui précèdent l'intubation ou la trachéotomie.

♦ *Evolution du rapport Ca/P :*

Il existe de très grosses variations de ce rapport chez le même malade. Elles sont indépendantes du pH et de la pCO_2 . En effet, l'étude de la corrélation entre le pH et la pCO_2 et le calcium ou le phosphore donne des valeurs comprises entre - 0,25 et + 0,80 pour le coefficient de SPEARMAN.

Nous avons déterminé le taux de carbonates, de calcium et de phosphore osseux chez 15 sujets témoins, et chez 13 malades insuffisants respiratoires dont leur état a nécessité une intubation ou une trachéotomie. Nous avons pu ainsi enregistrer une diminution rapide et importante du rapport CO_2/Ca au cours de la ventilation assistée. Après le troisième jour de ventilation, l'aspect clinique du malade semble conditionner l'évolution de ce rapport. Les variations du rapport Ca/P sont indépendantes de l'acidose respiratoire du sujet étudié.

III - DISCUSSION

3 - 1 - Sur le plan technique :

Notre premier objectif était l'application d'une méthode extractive et titrimétrique de mesure des carbonates osseux afin de suivre par un dosage biologique les effets de la ventilation assistée.

3 - 1 - 1 - TECHNIQUE D'EXTRACTION DES CARBONATES :

La technique choisie comporte une histolyse à chaud de prélèvements osseux frais. A l'occasion du rappel bibliographique, nous avons souligné que tous les auteurs n'étaient pas d'accord sur l'utilité d'une histolyse à chaud qui a l'avantage d'être rapide, mais qui risque de provoquer une oxydation brutale des molécules organiques. Nous avons noté une élévation du taux de CO_2 , lorsque la température de 120°C était atteinte trop rapidement (en moins d'une demi-heure). Ceci se traduit par une prise en masse de notre échantillon, de telle sorte que le produit d'histolyse comporte une phase liquide et une phase solide. En surveillant la montée de la température et surtout avec l'introduction d'un régulateur de chauffage qui permet d'atteindre 120°C en 90 minutes, nous avons supprimé ce phénomène.

Il est difficile de comparer les valeurs moyennes de nos témoins avec celles publiées dans la littérature, car les seuls travaux faits antérieurement reposaient sur des prélèvements effectués post mortem. Cependant, dans notre essai de reproductibilité, nous avons obtenu des résultats satisfaisants puisque le test de Student est égal à 0,08 pour un degré de liberté de 9 ; (tableau n° II) ceci permet de supposer que nos résultats sont comparables d'un dosage à l'autre.

Nous voyons de plus un avantage à employer ce protocole opératoire. La technique que nous avons mise en oeuvre peut être appliquée aussi bien aux tissus mous qu'à l'os, alors que les techniques manométriques exigent un réactif différent pour extraire les carbonates selon le type de tissu exploré.

3 - 1 - 2 - TECHNIQUE DE DOSAGE DES CARBONATES :

Nous avons décrit précédemment les différents procédés de dosage des carbonates dans une solution alcaline. Il nous a semblé qu'un procédé de titration "pH métrique" était plus précis qu'une technique volumétrique avec un indicateur coloré comme point final du dosage. La soude carbonatée présente cet avantage.

3 - 1 - 3 - DOSAGE DU CALCIUM ET DU PHOSPHORE :

Les dosages classiquement utilisés pour les milieux biologiques sont adaptables à l'étude des composants du tissu osseux si on prend la précaution d'homogénéiser

d'une part l'hydrolysate et d'autre part sa dilution avant d'entreprendre les dosages.

Nous devons cependant souligner que les variations du rapport Ca/P au cours de notre étude itérative sont pour l'instant ininterprétables. Il est à noter toutefois que ce rapport tend vers 1 chez les malades qui reçoivent du phosphore : tel est le cas du malade n° 1 (Cf. tableau VIII).

3 - 1 - 4 PROBLEMES POSES PAR LE PRELEVEMENT OSSEUX :

Nous avons vu que le prélèvement osseux est réalisé au niveau de la crête iliaque alternativement d'un côté et de l'autre. Il est important de savoir si les échantillons peuvent être considérés comme comparables entre eux (nous avons simplement utilisé pour notre essai de reproductibilité des biopsies osseuses prélevées sensiblement dans la même zone). Les histologistes considèrent qu'un fragment osseux est représentatif de l'os entier. Il est vrai, cependant, que l'endroit où s'est effectué la ponction biopsie osseuse peut être assimilable à une zone de remaniement osseux. Ceci entraîne le remplacement du cristal osseux, avec la possibilité d'avoir des cristaux différents de ceux constituant le reste du tissu osseux. Toutefois, les études réalisées avec du calcium radioactif montrent que les minéraux ne sont pas seulement incorporés dans les surfaces osseuses en état de croissance active, mais il pénètrent également à l'intérieur de l'os de façon diffuse par un mécanisme d'échanges (45)

La manipulation d'un échantillon frais pose certains problèmes. Il est à souligner que le prélèvement peut être souillé par du sang, du tissu cartilagineux ou du tissu adipeux. L'apport de carbonates par le sang est négligeable puisque 2 ml de sang ne contiennent que 2 mg de carbonates exprimés en CO_2 . Les perturbations provoquées par les autres tissus pourraient à la fois intéresser le dosage du calcium, du phosphore et les déterminations des carbonates. Seuls des dosages dans ces tissus permettront peut-être de savoir dans quelle mesure une contamination par du tissu non osseux entraîne des résultats erronés.

Si nous considérons simplement le tissu osseux, celui-ci est composé d'une partie corticale et d'une partie médullaire. Certains auteurs qui opèrent sur un os dégraissé et séché à 100°C - 115°C , suppriment toute trace de la fraction médullaire, soit par dissection, soit simplement à l'aide d'un jet d'eau (45). En fait, dans leurs conditions opératoires, le CO_2 médullaire ne représente au maximum que 0,5 % du CO_2 total de l'os (50) ; nous reviendrons plus loin sur ce problème.

En tenant compte des observations précédentes et en considérant que la quantité de calcium échangeable chez l'adulte est de 5 g environ pour un poids total de calcium de 1 kilogramme environ, il nous a semblé souhaitable d'exprimer les variations des carbonates osseux par rapport au calcium osseux; pour discuter les variations dynamiques au cours de la ventilation assistée.

Pour terminer la partie technique de notre discussion, nous devons poser le problème de la conservation des échantillons. Ce point en effet nous paraît important, car il a

été un facteur limitant pour notre étude. Ceci n'a pas semblé préoccuper les auteurs comme FREEMAN (50), qui réalisent le dosage sur des prélèvements "frais" conservés à $+ 4^{\circ}\text{C}$ pendant 24 heures. Ce mode de stockage nous paraît insuffisant, nous avons constaté en effet une augmentation très marquée du taux des carbonates après un séjour de 24 heures dans ces conditions. La mise au congélateur à $- 35^{\circ}\text{C}$ sera dans l'avenir à envisager, et mieux encore l'utilisation de l'azote liquide, méthode très employée pour la conservation d'organes.

* * *

3 - 2 - Sur le plan de nos résultats cliniques :

Si pendant les 48 heures qui suivent l'intubation ou la trachéotomie, nos résultats montrent une certaine constance de la réponse tissulaire à la ventilation, les modifications des carbonates osseux dans les jours suivants apparaissent très différentes d'un malade à l'autre.

Il est donc nécessaire de faire une analyse critique des données que nous avons obtenues en fonction des expérimentations qui ont été résumées dans les chapitres précédents.

Le premier point à envisager est l'appréciation de la validité de notre étude par rapport aux travaux sur l'hypercapnie et l'acidose respiratoire ou métabolique.

3 - 2 - 1 - LIMITES DE NOTRE ETUDE :

Nous avons insisté sur l'importance du "steady state" pour définir une population chronique ou aiguë. Cet état est obtenu aisément chez l'animal car il est dans une certaine mesure possible d'éliminer un facteur pouvant perturber une exploration. Ainsi réalise-t-on chez le chien une néphrectomie afin d'éliminer le facteur rénal dans la réponse des tissus à un état d'alcalose ou d'acidose ; il est donc possible de supprimer chez l'animal l'interférence de l'effet BOHR et HALDANE en leur imposant une pO_2 constante.

Si le fonctionnement rénal et l'hypoxie de nos malades insuffisants respiratoires conditionnent en partie leur état clinique, nous devons signaler le rôle des perfusions et de l'alimentation parentérale au cours de leur hospitalisation.

Il est nécessaire de surveiller de très près l'état clinique et biologique des malades pendant les premiers jours qui suivent l'intubation, par la suite la surveillance se relâche. Ceci explique sans doute que nos résultats soient difficilement interprétables après cinq à huit jours de ventilation assistée.

Ces considérations nous ont conduit à pratiquer des dosages sur des biopsies rapprochées pour déterminer la rapidité d'échange de l'os en considérant les modifications cliniques et biologiques : ce travail permettant ensuite d'envisager des prélèvements éloignés, dans la mesure où nous aurions eu des modifications peu significatives du rapport CO_2/Ca dans les trois premiers jours par exemple.

3 - 2 - 2 - DISCUSSION DE NOS RESULTATS EN FONCTION DES TRAVAUX ANTERIEURS :

L'insuffisant respiratoire peut être étudié soit dans la période qui suit une assistance respiratoire, soit lorsqu'il se décompense.

3 - 2 - 2 - 1 - PERIODE POST-VENTILATOIRE :

Nous avons remarqué dans le schéma n° 5 que deux périodes étaient intéressantes à étudier. La première concerne les 48 heures après l'intubation, les jours suivants permettent de définir la seconde période.

3 - 2 - 2 - 1 - 1 - Etude de la première période :

Huit malades ont présenté une chute importante du rapport CO_2/Ca dans les 24 heures qui suivent l'assistance respiratoire. Il est logique d'envisager la présence d'une fraction labile au sein du tissu osseux. Cette hypothèse est soutenue depuis longtemps par les auteurs s'intéressant aux variations des électrolytes tissulaires, dans l'acidose et l'alcalose métabolique. En revanche, les physiologistes s'intéressant à l'hypercapnie, ne partagent pas tous cette idée, même ceux qui ont dosé directement les carbonates tissulaires comme FREEMAN et NICHOLS (50 - 80). En fait, il convient de mettre en cause la technique de dosage employée par ces auteurs et celle que nous avons utilisée. FREEMAN, NICHOLS, BERGSTROM (11) analysent les tissus osseux après les avoir disséqués et desséchés à 100°C pendant 24 h. ; nous avons indiqué dans le chapitre précédent, les réticences de NEUMAN à l'égard de ce protocole opératoire. Quelques dosages pratiqués par nous, sur un prélèvement dégraissé à l'alcool-acétone puis desséché à 105°C pendant 24 heures, permettent la confirmation de cette étude (perte de CO_2 de l'ordre de 30 %).

Il reste à définir la nature de cet échangeur rapide. Les corrélations positives d'une part entre le calcium et le phosphore osseux, et d'autre part entre le calcium osseux et les carbonates osseux sont intéressantes à étudier. Pour les malades qui ont un coefficient de Spearman significatif pour l'étude calcium-phosphore par exemple Evan. + 0,88, Dev. + 0,95, Gav. + 0,90, Did. + 1, Fen. + 0,92, la corrélation entre calcium et carbonates est très médiocre, respectivement - 0,5, + 0,80, + 0,4, - 0,7. Il est donc permis de penser que les carbonates en grande partie ne sont pas liés au calcium, mais sont peut être sous forme de sels alcalins (et non alcalino-terreux). NEUMAN d'ailleurs présume que ces carbonates sont en fait sous forme de bicarbonates répartis dans l'enveloppe d'hydratation des cristaux.

Ce pouvoir tampon paraît donc au moins pour certains malades être rapidement mobilisé au cours de variations brusques du pH et de la pCO_2 .

Nous pouvons ainsi expliquer les variations du rapport CO_2/Ca en fonction du temps après le troisième jour.

3 - 2 - 2 - 1 - 2 - Variation du rapport CO_2/Ca après le 3ème jour de ventilation assistée :

On peut imaginer deux types de réponse suivant la gravité de l'insuffisance respiratoire.

◆ Insuffisant respiratoire grave :

◇ reconstitution du stock osseux.

Certains malades paraissent en voie de reconstituer leur stock de carbonates osseux. Existe-t'il un autre compartiment à échange rapide comme le tissu adipeux par exemple ? ... Seuls des dosages de carbonates dans ce domaine pourront infirmer ou confirmer cette hypothèse ; il serait ainsi possible d'expliquer les résultats trouvés pour le malade 11 : il pesait en effet 34 Kg ! Quelques auteurs ont d'ailleurs étudié la variation du pH intracellulaire dans l'hypercapnie (1 - 74 - 89). Ils envisagent un stockage dans les tissus autres que le tissu osseux, sous forme de HCO_3^- , le passage de cet ion étant réalisé grâce à des transporteurs actifs influencés par la pCO_2 et la concentration des ions bicarbonates dans le milieu extracellulaire. Cependant, d'autres physiologistes soulignent que l'absence d'anhydrase carbonique dans le muscle par exemple rend ce point de vue discutable.

◇ réintoxication par le CO_2 .

Nous pouvons aussi penser que la remontée du taux des carbonates dans l'os est due à une nouvelle accumulation de CO_2 endogène, dans la mesure où la ventilation assistée ne provoque qu'une amélioration passagère, l'échangeur pulmonaire étant partiellement ou en grande partie détruit.

◆ Insuffisant respiratoire de moyenne importance :

Les réserves des carbonates osseux paraissent diminuer au cours de la ventilation assistée chez l'insuffisant respiratoire de moyenne importance.

La comparaison de ces valeurs avec celles trouvées pour une population témoin plus importante et répartie en différentes classes d'âge permettront peut-être de mieux définir le niveau de chronicité de nos malades.

3 - 2 - 2 - 2 - *PERIODE PRE-VENTILATOIRE :*

Les quatre premières séries de dosage montrent une augmentation du rapport CO_2/Ca dans la période de décompensation. Dans l'avenir, la pratique de biopsies osseuses, peu traumatisantes pour le malade, permettra peut-être la surveillance ambulatoire de l'insuffisant respiratoire.

* * *

CONCLUSIONS

Le but poursuivi dans ce travail est l'étude des variations du taux des carbonates de l'os au cours de la ventilation assistée, appliquée à des malades insuffisants respiratoires chroniques.

* * *

Le mode de prélèvement est la ponction biopsie, on peut ainsi obtenir des échantillons de 200 à 500 mg de tissu osseux.

L'extraction et le dosage des carbonates ont été réalisés selon la technique de REICHART sur des prélèvements osseux non deshydratés. Le dosage comporte une histolyse à chaud par l'acide sulfurique et un dosage du CO_2 libéré par titrimétrie dans des conditions précisées dans le texte.

La détermination du calcium et du phosphore sur le résidu d'histolyse a permis d'établir les rapports Ca/P et CO_2/Ca .

* * *

Une première série de dosage des carbonates a été pratiquée sur des malades sans antécédents pulmonaires ou osseux répartis en deux classes d'âge : avant 45 ans, après 45 ans.

L'examen des résultats montre que le stock des carbonates osseux est plus important dans la classe des plus de 45 ans.

Les résultats relevés chez les insuffisants respiratoires non traités permettent d'affirmer que le taux des carbonates osseux est plus élevé que chez les témoins (la moyenne du rapport CO_2/Ca chez les malades insuffisants respiratoires est de 3,83, la moyenne du rapport CO_2/Ca dans notre "population témoin" est de 1,16).

La ventilation assistée assure l'élimination d'une certaine quantité de CO_2 provenant des carbonates de l'os.

Cette épuration est suffisamment rapide, moins de 24 heures, pour qu'on puisse envisager l'existence dans les os, d'une fraction labile de carbonates; le pH et la pCO_2 semblent jouer un rôle dans les mouvements de cette fraction. Cependant il n'a pas été possible d'établir une corrélation entre le taux des carbonates osseux et ces paramètres : pH et pCO_2 .

* * *

Le Président de la Thèse :

J. DORCHE

VU, le Directeur de l'U.E.R. des
Sciences Pharmaceutiques
Pour le Directeur,
Le Directeur Adjoint :

L. ODDOUX

Vu et permis d'imprimer
LYON, le 8 Juin 1972

Le Président du Conseil de l'Univer-
sité Claude Bernard :

J. BOIDIN

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - **ADLER A., ROY A., RELMANN A.S.**
Intracellular acid-base regulation. I. The response of muscle cells to change in CO₂ tensions or extracellular bicarbonate concentration.
J. Clin. Invest., 1965, **44**, 8.
- 2 - **ADOLPH E.F., NANCE F.D., SCHILLING M.S.**
The carbon dioxide capacity of human body and the progressive effects of carbon dioxide upon the breathing.
Amer. J. Physiol., 1958, **87**, 532.
- 3 - **AGNA J.W., KNOWLES H.C., ALVERSON G.**
The mineral content of normal human bone.
J. Clin. Invest., 1958, **37**, 1357.
- 4 - **ALBRIGHT F., REIFENSTEIN E.C.**
The parathyroid glands and metabolic bone disease.
WILLIAMS et WILKINS, Editeur, Baltimore, p. 242.
- 5 - **ANREP G.V., AYADI M.S., TALAAT M.**
A method for determination of carbon dioxide applicable to blood and tissues.
J. Physiol., 1936, **86**, 153.
- 6 - **ARMSTRONG W.D.**
Composition and cristal structure of bone salt in metabolic interrelations.
REIFENSTEIN E.C., Editeur Josiale Marry.
Ir. Foundation New-York, 1950, 11.
- 7 - **ARMSTRONG W.D., SINGER L.**
Composition and constitution of the mineral phase of bone.
Clin. Orthop., 1965, **38**, 179.
- 8 - **BACHRA B.N., TRAUTZ O.R., SIMON S.L.**
Precipitation of calcium carbonates and phosphates.
Arch. Oral. Biol., 1965, **10**, 731.

- 9 - **BANUS M.G., KATZ L.N.**
Observation on the role of tissues in maintaining the acid-base equilibrium of the blood.
Amer. J. Physiol., 1927, **81**, 644.
- 10 - **BERGSTROM W.H.**
The relationship of sodium and potassium to carbonate in bone.
J. Biol. Chem., 1954, **206**, 711.
- 11 - **BERGSTROM W.H.**
The skeleton as an electrolyte reservoir.
Metab. Clin. Exptl., 1956, **5**, 433.
- 12 - **BORDIER P.**
Mesure histologique de la résorption osseuse dans l'ostéoporose.
Coll. Univ. Liège, 1965, **31**, 39.
- 13 - **BOWES H.J., MURRAY M.M.**
The chemical composition of teeth.
Biochem. J., 1935, **29**, 2721.
- 14 - **BRACKETT N.C., WINGO C.F., MUREN O., SOLANO J.T.**
Acid base response to chronic hypercapnia in man.
N. Engl. J. Med., 1969, **280**, 124.
- 15 - **BROCKLEHURST R.J., HENDERSON Y.**
The buffering of the tissues as indicated by the CO₂ capacity of the body.
J. Biol. Chem., 1927, **72**, 665.
- 16 - **BROWN E.B.**
Plasma electrolyte composition in dogs breathing high CO₂ mixture : source of bicarbonate deficit in severe respiratory acidosis.
J. Lab. Clin. Med. 1960, **55**, 767.
- 17 - **BUCHANAN D.L., NAKAO A.**
Turn over of bone carbonate.
J. Biol. Chem., 1952, **198**, 245.
- 18 - **BUCHANAN D.L., NAKAO A.**
Studies on the nature of bone carbonate.
Arch. Biol. Chem. Biophys., 1958, **77**, 168.
- 19 - **BURNELL J.M.**
Changes in bone Na and carbonate in metabolic acidosis and alkalosis in the dog.
J. Clin. Invest., 1971, **50**, 327.

20 - BURNS C.M.

The effects of the continued ingestion of mineral acid on growth of the body and bone and on the composition of bone and of the soft tissues.
 Biochem. J., 1929, **22**, 860.

21 - BURSAUX C.D., DUBOS C., POYART C.F.

Le CO₂ et les électrolytes de l'os.
 Bull. Physio-path. Resp., 1970, **6**, 373.

22 - CARTEN N.N., SELDIN D.W., TENG H.C.

Tissue and renal response to chronic respiratory acidosis.
 J. Clin. Invest., 1959, **38**, 949.

23 - CHARLOT G.

Les méthodes de la chimie analytique.
 MASSON édit. Paris, 1961, 1023.

24 - CHERNIACK N.S., LONGOBARDO G.S.

Oxygen and carbon dioxide gaz stores of the body.
 Physiol. Rev., 1970, **50**, 196.

25 - CLANCY R.C., BROWN E.B.

In vivo CO₂ buffer curves of skeletal and cardiac muscle.
 Amer. J. Physiol., 1966, **211**, 1309.

26 - CLODE M.F., CLARK J.H., CAMPBELL E.J.M.

The immediate CO₂ storage capacity of the body during exercise.
 Clin. Sci., 1967, **32**, 161.

27 - COHEN J.J., BRACKETT N.C., SCHWARTZ W.B.

The nature of the carbon dioxide titration curve in the normal dog.
 J. Clin. Invest., 1964, **43**, 777.

28 - CONWAY E.J., O'MALLEY E.

Microdiffusion methods.
 Biochem. J., 1942, **36**, 655.

29 - CONWAY E.J., FEARON P.J.

The acid labile CO₂ in mammalian muscle and the pH of the muscle fibre.
 J. Physiol., 1944, **103**, 274.

30 - DALLEMAGNE M.J.

Etude quantitative et qualitative du CO₂ osseux.
 Acta Biol. Belg., 1941, **1**, 374.

- 31 - **DALLEMAGNE M.J.**
Une méthode de dosage du CO₂ dans les solides pulvérisés.
Bull. Soc. Chim. Biol., 1950, **32**, 282.
- 32 - **DALLEMAGNE M.J., RICHELLE L.J.**
Le tissu osseux : structure et métabolisme.
P. Méd., 1965, **33**, 1915.
- 33 - **DANIELSON I.S., HASTING A.B.**
A method for determining of tissue carbone dioxide.
J. Biol. Chem., 1939, **130**, 349.
- 34 - **EDELMAN I.S., JAMES A.H., BADEN A.H., MOORE F.D.**
Electrolyte composition of bone and the penetration of radiosodium and deuterium oxide into dog and human bone.
J. Clin. Invest., 1954, **33**, 122.
- 35 - **ELKINTON J.R., SINGER R.B., BARKER E.S., CLARK J.K.**
Effects in man of acute experimental respiratory alkalosis and acidosis on ionic transfers in the total body fluids.
J. Clin. Invest., 1955, **34**, 1671.
- 36 - **ELLIOTT J.C.**
Recent progress in the chemistry, crystal chemistry, and structure of apatites.
Calc. Tiss. Res., 1969, **3**, 293.
- 37 - **ENGEL K., DELL R.B., RAHILL W.J., DENNING C.R., WINTERS R.W.**
Quantitative displacement of acid base equilibrium in chronic respiratory acidosis.
J. Appl. Physiol., 1968, **24**, 288.
- 38 - **FABRY C., CLOOSEN J.**
Composition des sels osseux dans les tissus en voie d'ossification.
Bull. Soc. Chim. Biol., 1961, **43**, 253.
- 39 - **FARHI L.E.**
Gas stores of the body.
In Handbook of Physiol. Resp. Washington, D.C.
Am. Physiol. Soc., 1963, **3/1**, 873.
- 40 - **FARHI L.E., RAHN H.**
Dynamics of changes in carbon dioxide stores.
Anesthesiology., 1960, **21**, 604.
- 41 - **FENN W.O.**
Amer J. Physiol., 1928, **7**, 433 cité par REICHART : 90.

- 42 - FENN W.O.**
The carbon dioxide dissociation curve of nerve and muscle.
Amer. J. Physiol., 1928, **85**, 207.
- 43 - FERGUSSON J.K.W., IRVING L., PLEWES F.B.**
The source of expired CO₂ in decapitated, eviscerated cats.
J. Physiol. (London), 1929, **68**, 265.
- 44 - FERGUSON J.K.W., IRVING L., PLEWES F.B.**
The source of expired CO₂ and the site of its retention.
J. Physiol., 1930, **69**, 113.
- 45 - FOURMAN P., ROYER P.**
Calcium et tissu osseux : biologie et pathologie.
Editions FLAMMARION (Laboratoire SANDOZ), 1969.
- 46 - FOWLE A.S.E., MATTHEWS C.M.E., CAMPBELL E.J.M.**
The immediate carbon dioxide storage capacity of man.
Clin. Sci., 1964, **27**, 41.
- 47 - FOWLE A.S.E., MATTHEWS C.M.E., CAMPBELL E.J.M.**
The rapid distribution of 3 H₂O and CO₂ in the body in relation to the immediate carbon dioxide storage capacity.
Clin. Sci., 1964, **27**, 51.
- 48 - FRANCOIS C.**
Méthode de détermination de l'échange isotopique des ions carbonate d'un solide.
Bull. Soc. Chim. Biol., 1958, **40**, 519.
- 49 - FRANCOIS P., HERMAN H.**
Le composé minéral fondamental des tissus calcifiés.
II - Les sels osseux contiennent un phosphate de calcium différent de l'hydroxyapatite.
Bull. Soc. Chim. Biol., 1961, **43**, 643.
- 50 - FREEMAN F.H., FENN W.O.**
Changes in carbondioxide stores of rates due to atmospheres low in O₂ or high in CO₂.
Amer J. Physiol., 1953, **174**, 422.
- 51 - GABRIEL S.**
Chemische Untersuchungen über die Mineralstoffe der Knochen und Zähne.
Hoppe-Seylers Z, Physiol. Chem., 1894, **18**, 275.
- 52 - GIEBISCH G.C., BERGER., PITTS R.F.**
The extrarenal response to acute acid base disturbance of respiration.
J. Clin. Invest., 1955, **34**, 231.

- 53 - GODARD D.R.**
The biological role of carbon dioxide.
Anesthesiology, 1960, **21**, 587.
- 54 - GOLDENBERG H., FERNANDEZ A.**
Simplified method for the estimation of inorganic phosphorus in body fluids.
Clin. Chem., 1966, **12**, 871.
- 55 - GOLDSTEIN Mc., GENNARI F.J., SCHWARTZ W.B.**
The influence of graded degrees of chronic hypercapnia on the acute carbon dioxide titration curve.
J. Clin. Invest., 1971, **50**, 208.
- 56 - GONG G.K., ARNOLD J.S., COHN S.H.**
The density of organic and volatile and non volatile inorganic components of bone.
Composition of trabecular and cortical bone.
Anat. Rec., 1964, **149**, 319.
- 57 - GOTO K.**
Mineral metabolism in experimental acidosis.
J. Biol. Chem., 1918, **36**, 355.
- 58 - HERMAN H., FRANCOIS P., FABRY C.**
Le composé minéral des tissus calcifiés. Présence de groupements acides dans le réseau apatitique des phosphates de calcium synthétiques.
Bull. Soc. Chim. Biol., 1961, **43**, 629.
- 59 - HOLADAY D.A.**
The intracellular and whole blood acid-base response to acute CO₂ retention in vivo.
Ann. N.Y. Acad. Sci., 1966, **133**, 172.
- 60 - ICHIYANAGI**
Acid-base changes of arterial plasma during exogenous and endogenous hypercapnia in man.
Respir. Physiol., 1969, **7**, 310.
- 61 - IRVING L., CHUTE A.L.**
The participation of the carbonates of the bone in the neutralisation of ingested acid.
J. Cell. Comp. Physiol., 1932, **2**, 157.
- 62 - KASEMI H., SCHANNON D.C., CARVALLO-GIL E.**
Brain CO₂ buffering. Capacity in respiratory acidosis and alkalosis.
J. Appl. Physiol., 1967, **22**, 241.

- 63 - **KILBORN L.G.**
The respiratory quotient after evisceration in cats.
J. Physiology (London), 1928, **66**, 403.
- 64 - **KRAMER B., SHEAR M.J.**
Composition of bone. Primary calcification.
J. Biol. Chem., 1928, **79**, 147.
- 65 - **KUYPER A.C., JONES L.M.**
A rapid procedure for determination of carbonate.
Ind. and Eng. Chem. Anal., 1941, **13**, 801.
- 66 - **LEMANN Jr. J., LITZON J.R., LENNON E.J.**
The effects of chronic loads in normal man : further evidence for the participation of bone mineral in the defense against chronic metabolic acidosis.
J. Clin. Invest., 1966, **45**, 1608.
- 67 - **LEMONNIER-CHAPUY F.**
Le dosage du CO₂ osseux chez l'homme. Première tentative d'une étude chez l'insuffisant respiratoire.
Thèse Med. Lyon, 1972.
- 68 - **LEVITIN H., JOCKERS Cr., EPSTEIN F.H.**
The response of tissue electrolytes to respiratory acidosis.
Clin. Resp., 1958, **6**, 259.
- 69 - **LEVITT M.F., TURNER L.B., SWEET A.Y., PANDIRI.**
The response of bone connective tissue and muscle to acute acidosis.
J. Clin. Invest., 1956, **35**, 98.
- 70 - **LICHWITZ A., PARLIER R.**
Calcium et maladie métabolique de l'os.
L'expansion, Paris, 1962.
- 71 - **MAC CONNELL D.**
Crystal structure of bone.
Clin. Orthop., 1962, **23**, 253.
- 72 - **MAC DONALD I.**
Chemical analysis of human foetal skull bones.
Biochem. J., 1954, **57**, 437.
- 73 - **MATTHEWS C.M.E., LASZLO C., CAMPBELL E.J.M., READ J.C.**
A model for the distribution and transport of CO₂ in the body and ventilatory response to CO₂.
Resp. Physiol., 1968, **6**, 45.

- 74 - MESSETER K., SIESJÖ B.K.**
The intracellular pH in the brain in acute and sustained hypercapnia.
Acta Physiol. Scand., 1971, **83**, 210.
- 75 - MITCHELL H.H., HAMILTON T.S., STEGGERDA F.R., BEAB H.W.**
The chemical composition of the adult human body and its bearing on the biochemistry of growth.
J. Biol. Chem., 1945, **158**, 625.
- 76 - MORGULIS S.**
Studies on the chemical composition of bone ash.
J. Biol. Chem., 1931, **93**, 455.
- 77 - NAHAS G.G.L., VEROSKY N.**
The storage of CO₂ during apneic oxygenation.
Annal. N.Y. Acad. Scien., 1966, I **33**, 134.
- 78 - NEUMAN W.F., NEUMAN M.W.**
The nature of the mineral phase of bone.
Chem. Rev., 1953, **53**, 1.
- 79 - NEUMAN W.F., MULRYAN B.J.**
Synthetic hydroxyapatite crystals.
Calc. Tiss. Resp., 1967, **1**, 94.
- 80 - NICHOLS G. Jr.**
Serial changes in tissue carbon dioxide content during acute respiratory acidosis.
J. Clin. Invest., 1958, **37**, 1111.
- 81 - NICHOLS G. Jr., SCHAEFER K.E.**
Exchange of electrolytes under carbon dioxide. Man's dependance on the earthly atmosphere edited by SCHAEFFER E.E. New York, 1962, 145.
- 82 - PELLEGRINO E.D., FARBER S.J.**
Human bone electrolytes in various disease states.
Clin. Resp., 1958, **6**, 259.
- 83 - PELLEGRINO E.D., BLITZ R.M.**
The composition of human bone in uremia.
Medecine (Baltimore), 1965, **44**, 397.
- 84 - PICKERING D.E., FORAN R.F., SCOTT K.G., CRANE J.T.**
Chemical growth dynamics of the skeleton in the immature rat.
Amer. J. Dis. Child., 1956, **92**, 276.

- 85 - **PITTS R.F.**
Mecanisins for stabilizing the alkaline reserves of the body.
Harvey Lectures, 1952 - 1953, **48**, 172.
- 86 - **POST M., SCHOEMAKER W.C.**
Bone electrolyte response to intravenous acid loads.
Surg. Gynec. Obst., 1962, **115**, 749.
- 87 - **PREGL F.**
Die quantitative organische mikroanalyse.
Berlin 1930 cité par IRVING : (61).
- 88 - **RAHN H.**
The gaz store of the body with particular reference to carbon dioxide. Man's dependance on the earthly atmosphere edited by SCHAEFFER E.E. New-York, 1962, 297.
- 89 - **RELMAN A.S.**
Intracellular acid base equilibrium. The reaction of muscle cells to metabolic and respiratory changes in extracellular acidity.
Trans. Ass. Amer. Physnc., 1963, **76**, 176.
- 90 - **REICHART E.**
Mesure du CO₂ total de l'organisme du rat normal par une méthode extractive et titrimétrique.
C.R. Soc. Biol. Paris, 1965, **159**, 2240.
- 91 - **REICHART E.**
Variation du CO₂ total de l'organisme chez le rat albinos placé en hypercarboxie de longue durée.
C.R. Soc. Biol. Paris, 1965, **169**, 1671.
- 92 - **REICHART E.**
Hypercapnie experimentale et mesure du gaz carbonique tissulaire chez le rat.
Bull. Physio. Path., 1967, **3**, 281.
- 93 - **REICHART E.**
Teneur en eau et en graisse du muscle squelettique chez le rat hypercapnique chronique.
Path. Biol., 1970, **18**, 1059.
- 94 - **RICHELLE L.J.**
One possible solution to the problem of the biochemistry of bone mineral.
Clin. Orthop., 1964, **33**, 211.
- 95 - **ROSENBAUM J.D.**
The influence of alterations in acid base balance upon transfers of carbon dioxide and bicarbonate in man.
J. Clin. Invest., 1942, **21**, 735.

- 96 - **SCHWARTZ W.B., BRACKETT J.R., COHEN J.J.**
The response of extracellular hydrogen ion concentration to graded degrees of chronic hypercapnia ; physiologic limits of defense of pH.
J. Clin. Invest., 1965, **44**, 291.
- 97 - **SHAW L.A.**
The comparative capacity of the blood and of the tissue to absorb carbonic acid.
Amer. J. Physiol., 1926, **79**, 91.
- 98 - **SHAW L.A., MESSNER A.C.**
The carbon dioxide capacity of the body and the rate at which the body comes into equilibrium with changes in the alveolar carbon dioxide tension.
Amer. J. Physiol., 1930, **93**, 422.
- 99 - **SHAW L.A., MESSNER A.C.**
The transfer of carbonate between the blood and tissues caused by alteration of carbon dioxide in the lung.
Amer. J. Physiol., 1932, **100**, 122.
- 100 - **SIGGAARD-ANDERSEN O.**
Blood acid-base alignment normogram.
Scand. J. Clin. Lab. Invest., 1963, **15**, 211.
- 101 - **SOBEL A.E., ROCKENMACKER M., KRAMER B.**
Microestimation of the inorganic constituents of bone.
J. Biol. Chem., 1944, **152**, 255
- 102 - **SOBEL A.E., ROCKENMACKER M., KRAMER B.**
Carbonate content of bone in relation to the composition of blood and diet.
J. Biol. Chem., 1945, **158**, 475.
- 103 - **STANMEYER W.R., SCOFIELD H., COLBYR., KING C.T.G.**
Prolonged exposure to carbon dioxide on calcification. Man's dependence on the earthly atmosphere edited by SCHAEFFER K.E. New-York 1962, 157.
- 104 - **STEENBOCK H., NELSON V.E., HART E.B.**
Acidosis in omnivora and herbivora and its relation to protein storage.
J. Biol. Chem., 1914, **19**, 399.
- 105 - **SULLIVAN S.F., PATTERSON R.W., PAPPER E.M.**
Tissue carbon dioxide stores : magnitude of acute change in the dog.
Amer. J. Physiol., 1964, **206**, 887.
- 106 - **TERMINE J.D., POSNER A.S.**
Amorphous crystalline interrelationships in bone mineral.
Calc. Tiss. Res., 1967, **1**, 8.

- 107 - **THOMPSON A.H., BROWN E.B.**
Tissue carbon dioxide concentration in rats during acute respiratory acidosis.
J. Apply. Physiol., 1960, **15**, 49.
- 108 - **TRONCHET J.**
La détermination complexométrique du calcium sérique. Proposition d'une technique de dosage direct.
Ann. Biol. Clin., 1958, **16**, 459.
- 109 - **VAN LIEW H.D.**
Tissue pO_2 and pCO_2 estimation with subcutaneous gas pockets.
J. Appl. Physiol., 1962, **17**, 851.
- 110 - **VAN SLYKE D.D., CULLEN E.**
The bicarbonate concentration of the blood plasma, its significance, and its determination as a measure of acidosis.
J. Biol. Chem., 1917, **30**, 289.
- 111 - **VAN SLYKE D.D., FOLCH J.**
Manometric carbon determination.
J. Biol. Chem., 1940, **136**, 509.
- 112 - **VAN YPERSELE de STRIHOU C.L., BRASSEUR C.L., DE CONINCK J.**
The carbon dioxide response curve for chronic hypercapnia in man.
N. Engl. J. Med., 1966, **275**, 117.
- 113 - **WEISS E.B., DULFANO M.J.**
Quantitative acid-base dynamics in chronic pulmonary disease.
Ann. Inter. Med., 1968, **69**, 263.
- 114 - **WOODBURY D.H., WILCOX W.D.**
Acid-base changes in brain and skeletal muscle of maturing rats.
Am. J. Physiol., 1964, **206**, 521.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	1
I - PARTIE ETUDE ANALYTIQUE	4
1 - 1 - Méthodes de dosage des carbonates tissulaires	5
1 - 1 - 1 - LES METHODES MANOMETRIQUES.	5
1 - 1 - 1 - 1 - <i>HYDROLYSE ALCALINE</i>	
1 - 1 - 1 - 2 - <i>HYDROLYSE ACIDE.</i>	
1 - 1 - 2 - LES METHODES GRAVIM ETRIQUES	8
1 - 1 - 3 - LES METHODES CONDUCTIMETRIQUES.	8
1 - 1 - 4 - LES METHODES TITRIMETRIQUES	8
1 - 1 - 4 - 1 - <i>METHODE DE CONWAY</i>	
1 - 1 - 4 - 1 - 1 - <i>Technique initiale de CONWAY</i>	
1 - 1 - 4 - 1 - 2 - <i>Technique modifiée par DALLEMAGNE</i>	
1 - 1 - 4 - 2 - <i>METHODE KUYPER</i>	
1 - 1 - 4 - 3 - <i>METHODE DE DOSAGE DES CARBONATES PAR TITRATION D'UNE SOLUTION DE SOUDE CARBONATEE.</i>	
1 - 1 - 4 - 3 - 1 - <i>Technique de REICHART</i>	
1 - 1 - 4 - 3 - 2 - <i>Technique de BURSAUX</i>	
1 - 1 - 5 - COMMENTAIRES SUR LES PROTOCOLES EXPERIMENTAUX DE- CRITS DANS LA LITTERATURE	10
1 - 1 - 5 - 1 - <i>A PROPOS DE LA PREPARATION DE L'ECHANTILLON A ANALYSER.</i>	
1 - 1 - 5 - 2 - <i>A PROPOS DES METHODES D'EXTRACTION.</i>	
1 - 1 - 5 - 3 - <i>A PROPOS DES METHODES DE DOSAGE.</i>	

1 - 2 - Travaux personnels	13
1 - 2 - 1 - DOSAGE DES CARBONATES OSSEUX	13
1 - 2 - 1 - 1 - <i>PRINCIPE DU DOSAGE</i>	
1 - 2 - 1 - 2 - <i>MATERIEL ET REACTIFS</i>	
1 - 2 - 1 - 3 - <i>PROTOCOLE OPERATOIRE</i>	
1 - 2 - 1 - 3 - 1 - <i>Libération du CO₂</i>	
1 - 2 - 1 - 3 - 2 - <i>Dosage des carbonates.</i>	
1 - 2 - 2 - DOSAGE DU CALCIUM ET DU PHOSPHORE OSSEUX	18
1 - 2 - 2 - 1 - <i>DOSAGE DU CALCIUM OSSEUX</i>	
1 - 2 - 2 - 2 - <i>DOSAGE DU PHOSPHORE OSSEUX.</i>	
1 - 2 - 3 - ESSAIS D'APPRECIATION DE LA VALIDITE DE LA METHODE ...	19
1 - 2 - 3 - 1 - <i>ESSAI DE PRECISION DE LA METHODE</i>	
1 - 2 - 3 - 2 - <i>ESSAI DE REPRODUCTIBILITE</i>	
1 - 2 - 3 - 3 - <i>FACTEURS POUVANT PERTURBER LES RESULTATS.</i>	

II - PARTIE ETUDE DYNAMIQUE

2 - 1 - Travaux antérieurs	23
2 - 1 - 1 - RAPPEL DES DIVERSES EXPERIMENTATIONS ANIMALES ET HUMAINES	24
2 - 1 - 1 - 1 - <i>FIXATION TISSULAIRE DU CO₂ AU COURS D'UNE HYPERCAPNIE OU D'UNE ALCALOSE RESPIRATOIRE,</i>	
2 - 1 - 1 - 1 - 1 - <i>Chez l'animal</i>	
2 - 1 - 1 - 1 - 2 - <i>Chez l'homme</i>	
2 - 1 - 1 - 1 - 3 - <i>Les différentes hypothèses sur le rôle du tissu osseux dans l'hypercapnie.</i>	
2 - 1 - 1 - 2 - <i>EXPERIENCES D'ACIDOSES ET D'ALCALOSES METABOLIQUES.</i>	
2 - 1 - 1 - 2 - 1 - <i>Chez l'animal</i>	
2 - 1 - 1 - 2 - 2 - <i>Chez l'homme.</i>	
2 - 1 - 2 - RAPPEL SUR LA FRACTION INORGANIQUE DE L'OS	27
2 - 1 - 2 - 1 - <i>COMPOSITION MINERALE DE L'OS</i>	
2 - 1 - 2 - 2 - <i>NATURE DU CRISTAL OSSEUX.</i>	

2 - 2 - Travaux personnels	29
2 - 2 - 1 - SUJETS ETUDIES	29
2 - 2 - 1 - 1 - <i>POPULATION TEMOIN</i>	
2 - 2 - 1 - 2 - <i>MALADES INSUFFISANTS RESPIRATOIRES.</i>	
2 - 2 - 2 - METHODES D'ETUDE ITERATIVE	35
2 - 2 - 3 - PRELEVEMENTS REALISES	35
2 - 2 - 3 - 1 - <i>BIOPSIE OSSEUSE</i>	
2 - 2 - 3 - 2 - <i>PRELEVEMENTS SANGUINS</i>	
2 - 2 - 4 - PARAMETRES ETUDIES	36
2 - 2 - 4 - 1 - <i>PARAMETRES OSSEUX</i>	
2 - 2 - 4 - 2 - <i>PARAMETRES SANGUINS.</i>	
2 - 2 - 5 - RESULTATS	37
2 - 2 - 5 - 1 - <i>SUJETS TEMOINS</i>	
2 - 2 - 5 - 2 - <i>ETUDE DYNAMIQUE</i>	
2 - 2 - 5 - 3 - <i>COMMENTAIRES.</i>	
III - DISCUSSION.	52
3 - 1 - Sur le plan technique	53
3 - 1 - 1 - TECHNIQUE D'EXTRACTION DES CARBONATES	53
3 - 1 - 2 - TECHNIQUE DE DOSAGE DES CARBONATES	53
3 - 1 - 3 - DOSAGE DU CALCIUM ET DU PHOSPHORE	53
3 - 1 - 4 - PROBLEMES POSES PAR LE PRELEVEMENT OSSEUX	54
3 - 2 - Sur le plan des résultats cliniques	56
3 - 2 - 1 - LIMITES DE NOTRE ETUDE	56
3 - 2 - 2 - DISCUSSION DE NOS RESULTATS EN FONCTION DES TRAVAUX ANTERIEURS	56
3 - 2 - 2 - 1 - <i>PERIODE POST VENTILATOIRE</i>	
3 - 2 - 2 - 2 - <i>PERIODE PRE-VENTILATOIRE</i>	
IV - CONCLUSIONS.	59
BIBLIOGRAPHIE.	61

